

FISIOLOGÍA RELACIONADA AL USO DE LA ECG EN GANADO DE CARNE Y LECHE

Physiology related to the use of eCG in beef and dairy cattle

Reuben J. Mapletoft¹, Pietro S. Baruselli², Gabriel A. Bó^{3,4} *

¹ Western College of
Veterinary Medicine,
University of
Saskatchewan,
Saskatoon, SK, Canadá
S7N 5B4

² Departamento de
Reproducción Animal,
Universidade de São
Paulo, São Paulo, SP
05508-000, Brasil

³ Instituto de Reproducción
Animal Córdoba,
Argentina

⁴ Universidad Nacional de
Villa María, Córdoba,
Argentina

* Corresponding author:
Reuben Mapletoft, e-mail:
reuben.mapletoft@usask.ca

Recibido: 07/04/2022

Aceptado: 11/05/2022

Publicado: 31/07/2022

ABSTRACT

Equine chorionic gonadotrophin (eCG) is a high molecular weight glycoprotein produced by endometrial cups in the mare. ECG has primarily LH activity in the mare, but has FSH or LH activity in the cow, depending on the recipient populations in the ovary. Although eCG has been used to induce superovulation in a variety of species, several studies have demonstrated the beneficial effects of eCG on fixed-time AI (IATF) programs in beef and dairy cattle, and embryo recipients. Under these circumstances, eCG has stimulated the development of the ovulatory dominant follicle and produced ovulation of a larger follicle, resulting in a larger and more functional LC and longer embryo survival. In suckling beef cows, 400 IU of eCG at the time of removal of a progesterone device resulted in increased conception rates after IATF, and in dairy cattle managed in pastoral systems, the eCG administration resulted in a significant increase in pregnancy rates, especially in cows in anestrus. In embryo recipients, treatment with eCG has resulted in increased pregnancy rates after embryo transfer. This presentation will review some of this data and explore strategies to use the potential benefits of eCG to improve bovine reproduction.

Keywords: eCG, pregnancy, IATF, beef cows, milk cows

RESUMEN

La gonadotropina coriónica equina (eCG) es una glicoproteína de gran peso molecular producida por las copas de endometrio en la yegua. La eCG tiene principalmente una actividad LH en la yegua, pero tiene actividad FSH o LH en la vaca, según las poblaciones de receptoras en el ovario. Aunque la eCG se ha utilizado para inducir la superovulación en una variedad de especies, varios estudios han demostrado los efectos beneficiosos de la eCG en programas de IA a tiempo fijo (IATF) en ganado bovino de carne y leche, y receptoras de embriones. En estas circunstancias, la eCG ha estimulado el desarrollo del folículo dominante ovulatorio y producido la ovulación de un folículo más grande, lo que resulta en un CL más grande y funcional y una mayor supervivencia del embrión. En las vacas de carne en anestro que amamantan, 400 UI de eCG en el momento del retiro de un dispositivo con progesterona dieron como resultado un aumento en las tasas de concepción después de la IATF, y en el ganado lechero manejado en sistemas pastoriles, la administración de eCG dio lugar a un aumento significativo de las tasas de preñez, especialmente en vacas en anestro. En las receptoras de embriones, el tratamiento con eCG ha resultado en un aumento de las tasas de preñez después de la transferencia de embriones. Esta presentación revisará algunos de estos datos y explorará estrategias para utilizar los beneficios potenciales de la eCG para mejorar la reproducción bovina.

Palabras clave: eCG, preñez, IATF, vacas de carne, vacas de leche.

INTRODUCCION

El ganado bovino se maneja de manera diferente en diferentes partes del mundo. Los sistemas pastoriles (generalmente en Nueva Zelanda, Australia, algunos países europeos, América del Sur y el ganado de carne en América del Norte) por lo general requieren el mantenimiento de un intervalo estacional entre partos de ~ 12 meses. Las vacas que no mantienen este intervalo de parto generalmente se descartan por no preñadas, o si se usan dos temporadas de apareamiento, a menudo se trasladan al siguiente período de servicio. Por otro lado, las vacas lecheras en sistemas de manejo intensivo (algunos países en Europa, América del Norte, México y rodeos de alta producción en Brasil y Argentina), y los sistemas lecheros mixtos (como en Argentina y Australia), no tienen patrones estacionales de parto bien definidos, pero debe mantener un intervalo entre partos de 12 a 14 meses.

Aunque esto puede parecer sencillo, la realidad es que es difícil preñar a las vacas poco después del parto para mantener un intervalo de parto constante sin intervenciones agresivas. Se han desarrollado varios protocolos de tratamiento hormonal para controlar el momento del primer servicio, especialmente en las vacas en anestro anovulatorio (AA). Las vacas posparto con AA tienen una liberación insuficiente de LH pulsátil para soportar las etapas finales del desarrollo folicular ovárico y la ovulación (Yavas y Walton, 2000), lo que limita la efectividad de los protocolos de IATF (Meneghetti et al., 2009). Se ha demostrado que los progestágenos exógenos aumentan la frecuencia de los pulsos de LH durante y después del tratamiento que conduce a la ovulación (Rhodes et al., 2002); sin embargo, la eficacia de tales tratamientos puede verse comprometida en rodeos con una alta proporción de vacas AA y en vacas con baja condición corporal (Baruselli et al., 2004; Bó et al., 2007). Por lo tanto, las gonadotropinas a menudo se incluyen en los protocolos de sincronización para mejorar el soporte de LH.

Una de las gonadotropinas que ha generado mucha discusión es la gonadotropina coriónica equina (eCG). Esta hormona es una glicoproteína de alto peso molecular producida por las copas endometriales en la yegua entre los 35 y 100 días de gestación (Murphy y Martinuk, 1991). En la yegua, la eCG tiene una actividad LH, pero en la vaca, la eCG puede tener actividad FSH o LH, según las poblaciones de receptoras en el ovario en ese momento. Aunque la eCG se ha utilizado para inducir la superovulación en el ganado bovino, varios estudios han evaluado los efectos de la eCG en el momento del retiro de un dispositivo de liberación de progesterona en los programas de la IATF en ganado de carne y leche, y en la transferencia de embriones. Cuando se administra en vacas con un folículo dominante en crecimiento, la eCG estimula el crecimiento folicular, porque tiene la capacidad de unirse a los receptores tanto de LH como de FSH. El aumento en el crecimiento del folículo ovulatorio y las tasas de ovulación dan como resultado un CL más grande y funcional y mayores niveles de progesterona circulante, con mayores tasas de supervivencia del embrión. Por lo tanto, la administración de eCG en el momento del retiro de los dispositivos con progesterona se ha utilizado como una alternativa para aumentar las tasas de preñez en los programas de IATF en vacas que amamantan con una alta prevalencia de AA (Baruselli et al., 2003; 2004; Cutaia et al., 2003; Soto et al., 2002).

El análisis de los datos de 9.668 IATF ha demostrado que los animales tratados con dispositivos de progesterona deben tener una condición corporal mayor a 2,5 (escala 1 a 5) para lograr tasas de preñez de 50% o más (Bó et al., 2007). Sin embargo, la adición de eCG al protocolo resultó en tasas de preñez cercanas al 50% en vacas con una condición corporal $\leq 2,5$. Es importante tener en cuenta que estos resultados se lograron solo cuando las vacas estaban mejorando su condición corporal. Si las condiciones de sequía o la falta de alimento impiden que el ganado mejore su condición corporal durante la temporada de reproducción, las tasas de preñez se reducirán mucho, incluso después de la administración de eCG. La mayoría de la evidencia científica sugiere que el tratamiento con eCG en el momento del retiro del dispositivo de progesterona es altamente eficaz en rodeos que tienen un alto porcentaje de vacas que no están ciclando (Bó et al., 2003). Baruselli et al. (2004) encontraron que la mejora en la fertilidad después de la administración de eCG se debía a un aumento en el porcentaje de vacas que ovulaban y tenían niveles aumentados de progesterona en circulación después de la IATF, posiblemente minimizando la pérdida embrionaria temprana. Anteriormente se demostró que los tratamientos que aumentan la progesterona durante la fase luteal aumentan el desarrollo embrionario (Garrett et al., 1988; Mann et al., 2006) y esto podría aumentar la fertilidad (Santos et al., 2001). Los mecanismos fisiológicos que conducen a una mayor producción de progesterona luteal después del tratamiento con eCG parecen implicar mayores proporciones, tamaño y/o función de células lúteas grandes en el CL. Por lo tanto, los aumentos en la progesterona circulante se han relacionado con la función de las células lúteales grandes (Ailla y Hansel, 1984).

TRATAMIENTOS UTILIZANDO ECG EN BOVINOS DE CARNE

El tratamiento con eCG en el momento del retiro de un dispositivo de progesterona en los protocolos con estradiol/progesterona se ha utilizado ampliamente en los programas de sincronización del estro (Baruselli et al., 2004; Bó et al., 2002). Probablemente el efecto más importante de la eCG es la estimulación del crecimiento del folículo ovulatorio que resulta en un aumento en las tasas de ovulación (Sa Filho et al., 2010), especialmente en vacas en anestro posparto y/o con baja condición corporal (BCS; Bó et al., 2002; 2007; Núñez-Olivera et al., 2014). De hecho, Bó et al. (2003) aumentaron las tasas de preñez después de IATF en vacas que amamantaban con una alta incidencia de AA, y en tres estudios con 526 vacas que amamantaban, la tasa general de preñez fue mayor en las vacas tratadas con eCG en el Día 8 de un protocolo de tratamiento de 8 días con estradiol/dispositivo de progesterona (51,9%) que en los controles no tratados (38,8%), y esto se debió principalmente a una mayor tasa de preñez en vacas sin un CL (es decir, que no ciclaban) en el momento de iniciar el tratamiento (Bó et al., 2004).

El uso de la eCG en el ganado de carne también se ha comparado con otras estrategias como el destete temporario (TW) en los programas de IATF basados en estradiol/progesterona. Se realizaron dos experimentos para comparar los efectos del tratamiento con eCG y/o destete temporario sobre las tasas de ovulación y preñez en vacas Bos indicus x Bos taurus en lactación con condiciones corporales de moderadas a bajas y aproximadamente 80% de anestro anovulatorio (Bó et al., 2007). Tanto el destete temporario

como el tratamiento con eCG aumentaron las tasas de ovulación [TW: 70,0%; eCG: 60,0%; y en las vacas del grupo control (sin destete temporario o eCG) 22,2%]. La tasa de crecimiento del foliculo ovulatorio fue mayor en las vacas tratadas con eCG ($1,1 \pm 0,1$ mm/día) que en las no tratadas con eCG ($0,6 \pm 0,1$ mm/día), mientras que el foliculo ovulatorio fue más pequeño en las vacas con destete temporario ($9,9 \pm 0,4$ mm) en comparación con las que no tuvieron destete temporario ($11,8 \pm 0,3$ mm). Las tasas de preñez fueron mayores en las vacas tratadas con eCG (40,8%) en comparación con ninguna eCG (32,6%), mientras que no se encontraron diferencias entre las vacas que tuvieron destete temporario (37,2%) y las que no lo tuvieron (36,1%). Hubo una interacción entre el destete temporario y las tasas de preñez debido a una mejoría en las tasas de preñez cuando las vacas tenían $> 2,5$ CC (destete temporario: 48,3% vs. sin destete temporario: 28,2%) y ninguna mejora cuando las vacas tenían $\leq 2,5$ CC (36,4% vs. 37,9 %). Se concluyó que el uso de la eCG, pero no del destete temporario, mejoró las tasas de preñez después de la IATF en vacas postparto *Bos indicus* x *Bos taurus* en condiciones corporales moderadas a bajas. Los resultados también sugieren que el aumento en las tasas de preñez relacionado con el tratamiento con eCG se debió a la tasa de crecimiento final del foliculo ovulatorio. Por otro lado, la ausencia o el pequeño efecto del destete temporario sobre las tasas de preñez contrasta con los datos de otros estudios realizados con vacas Nelore (Sa Filho et al., 2009; Penteadó et al., 2004). Por lo tanto, los efectos beneficiosos del destete temporario pueden diferir, según el manejo y la condición corporal de las vacas. Además, realizar un destete temporario entraña problemas logísticos, especialmente en establecimientos medianos y pequeños. Sin embargo, los resultados de ambos estudios confirmaron que la eCG aumenta las tasas de preñez en vacas AA que amamantan en un programa de IATF que utiliza dispositivos de progesterona y estradiol (Baruselli et al., 2004; Bó et al., 2002; 2007).

También se ha informado que el uso de la eCG beneficia los programas de sincronización que utilizan GnRH (en lugar de estradiol) y dispositivos con progesterona en vacas de carne que amamantan. Aunque los datos son limitados, se demostró que la adición de eCG aumenta las tasas de preñez en vacas *Bos indicus* en anestro postparto tratadas con un protocolo de dispositivo Co-Synch con progesterona (Pincinato, 2012) y en vacas primíparas *Bos taurus* en Canadá (Small et al., 2009). Sin embargo, no hubo mejoría en las tasas de preñez en vacas *Bos taurus* múltiparas con buena condición corporal (Marquezzini et al., 2013). Sa Filho et al. (2010) investigaron los efectos de la eCG aplicada en el momento del retiro del dispositivo de progestágeno en un protocolo Co-Synch con dispositivo de progesterona sobre la dinámica folicular ovárica y las tasas de preñez en vacas *Bos indicus* que amamantaban.

El tratamiento con eCG aumentó la tasa de crecimiento del foliculo dominante ($1,53 \pm 0,1$ vs. $0,48 \pm 0,1$ mm/día), su diámetro final ($11,4 \pm 0,6$ vs. $9,3 \pm 0,7$ mm) y la tasa de ovulación (80,8% vs. 50,0%), mientras que el tratamiento con GnRH (sin eCG) solo mejoró la sincronía de la ovulación. En 599 vacas, 40 a 120 días después del parto, las tasas de preñez fueron diferentes entre los grupos (27,6%, 40,1%, 47,7% y 55,7% para los grupos Control, GnRH, eCG y eCG + GnRH, respectivamente). Tanto eCG como GnRH mejoraron las tasas de preñez en comparación con los grupos no tratados (51,7% frente a 33,8% y 48,0% frente a 37,6%, respectivamente),

aunque los efectos no fueron aditivos. En conclusión, la eCG aplicada en el momento de la extracción del implante de progesterona aumentó la tasa de crecimiento del foliculo más grande, el diámetro del foliculo más grande al momento de la IATF, la tasa de ovulación y la tasa de preñez.

Se ha desarrollado un protocolo de 5 días en base a GnRH, llamado Co-Synch de 5 días con progesterona, para el ganado de carne en América del Norte, con tasas de preñez más altas que el obtenido con el protocolo más tradicional Co-Synch de 7 días con progesterona (Bridges et al., 2008). La base fisiológica de este protocolo es reducir el período de inserción del dispositivo de progesterona a 5 días, evitando el desarrollo de foliculos persistentes en las vacas que no ovulan con la primera GnRH, y luego alargando el período del proestro a 72 horas, para permitir un mayor desarrollo del foliculo dominante y mayores niveles de estrógenos circulantes antes de la ovulación. Sin embargo, se requieren dos inyecciones de PGF para inducir la regresión del CL resultante de la primera GnRH. El uso de eCG en el protocolo Co-Synch de 5 días con progesterona, se comparó con el protocolo estándar de estradiol/progesterona de 8 días, en 801 vacas de carne con cría al pie y en anestro postparto y 183 vacas de carne que estaban ciclando (Huguenine et al., 2013). Las vacas en el grupo Co-Synch de 5 días se trataron con dos PGF y la mitad de las vacas recibió 400 UI de eCG al momento del retiro del dispositivo de progesterona (Día 5). Las vacas tratadas con el protocolo convencional con estradiol recibieron 400 UI de eCG y 1 mg de ECP al momento del retiro del dispositivo de progesterona en el Día 8. Las vacas fueron IATF 52 a 56 horas después del retiro del dispositivo de progesterona en el grupo de estradiol y 72 horas después del retiro del dispositivo en los grupos de Co-Synch de 5 días. Aunque no se observaron diferencias en las tasas de preñez en las vacas que estaban ciclando, la tasa de preñez en las vacas en anestro postparto fue mayor en los grupos que recibieron eCG (Co-Synch de 5 días: 46,3%; estradiol: 54,5%) que en las del Grupo Co-Synch de 5 días que no recibieron eCG (26,8%). En Argentina, se ha desarrollado un protocolo a base al estradiol con un proestro alargado, llamado J-Synch (revisado en Bó et al., 2016; de la Mata et al., 2018). Este protocolo tiene la ventaja de que se usa estradiol, en lugar de GnRH, para sincronizar la emergencia de la onda folicular (y, por lo tanto, no se requieren dos inyecciones de PGF).

El uso de un protocolo J-Synch de 6 días ha dado como resultado una mayor tasa de preñez en vaquillonas que el protocolo convencional de 7 días basado en estradiol (Bó et al., 2016). Se realizó un gran ensayo de campo con 4.947 vaquillonas cruce Angus-Hereford en Uruguay para determinar los efectos del momento de la IATF y la adición de eCG en el momento de la extracción del dispositivo de progesterona sobre las tasas P/IA en vaquillonas tratadas con J-Synch en comparación con el protocolo estándar de 8 días con base en estradiol/dispositivo de progesterona (Revisado en Bó et al., 2016). En el Experimento 1, todas las vaquillonas recibieron un dispositivo de progesterona más estradiol en el Día 0. Las vaquillonas en el grupo de tratamiento convencional recibieron PGF y ECP y se les extrajo el dispositivo de progesterona el día 7. Luego, las vaquillonas se subdividieron las que recibieron IATF a las 48 o las 56 horas después de la extracción del dispositivo. Las vaquillonas en el grupo de tratamiento J-Synch recibieron PGF en el momento de la extracción del dispositivo en el día 6 y 60 o 72 horas más

tarde recibieron GnRH y IATF. Todas las vaquillonas también fueron tratadas con 300 UI de eCG al retirar el dispositivo. En general, las tasas de preñez fueron más altas (56,1% contra 50,7%) en las vaquillonas tratadas con J-Synch que en las tratadas con el tratamiento convencional. En el Experimento 2, todas las vaquillonas fueron tratadas con el protocolo J-Synch, pero al momento del retiro del dispositivo (Día 6 PM), las vaquillonas se dividieron en dos grupos que recibieron 300 IU de eCG o ninguna eCG, y las vaquillonas se subdividieron para recibir GnRH y IATF 60 o 72 horas después. El uso de eCG en el protocolo J-Synch resultó en mayores tasas de preñez (56,3% vs. 49,7%) cuando se realizaron inseminaciones 72 horas después del retiro del DIB. En resumen, la adición de eCG al protocolo J-Synch proporcionó una ventana más amplia de tiempo de inseminación para facilitar la IATF en un grupo muy grande de vaquillonas de carne.

TRATAMIENTOS UTILIZANDO ECG EN GANADO LECHERO

La nutrición, la condición corporal, la enfermedad metabólica y uterina y el diseño de las instalaciones influyen en la eficiencia reproductiva en el ganado lechero en el posparto (Butler, 2000; Gong, 2002; Lucy, 2001; Wiltbank et al., 2002; 2006), pero la pobre detección del estro afecta negativamente la reproducción (LeBlanc, 2001). Las vacas lecheras de alta producción entran en una fase de balance energético negativo, al mismo tiempo que se espera que comiencen a ciclar. Cuando la vaca está en un balance energético negativo, hay una disminución en la liberación de insulina, una disminución en los niveles de factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1), una reducción en los receptores de la hormona de crecimiento en el hígado (Webb et al., 1999) y una disminución en la frecuencia de los pulsos de LH que afectará adversamente el crecimiento de los folículos LH-dependientes (Gong, 2002; Monget et al., 2004). Esto, a su vez, afectará adversamente la producción de estrógenos, la expresión del estro, el pico preovulatorio de LH y la ovulación (Butler, 2000). Algunas vacas son capaces de superar los efectos del balance energético negativo al aumentar la ingesta de materia seca (Lucy, 2001). Una vez que se comienza a superar el balance energético negativo, los niveles de IGF-1 y la frecuencia de los pulsos de LH aumentan y la primera ovulación ocurre poco después (Butler, 2000). Sin embargo, los efectos del balance energético negativo sobre el desarrollo del folículo (Gumen et al., 2003; Vasconcelos et al., 2001) y la competencia en el desarrollo de los ovocitos ovulados al inicio del período posparto siguen sin estar claros.

Se han informado resultados contrastantes con el uso de 400 UI de eCG en el momento del retiro del dispositivo de progesterona en el ganado lechero durante la lactancia temprana. En tres experimentos realizados con vacas lecheras lactantes en Argentina, las tasas de preñez fueron mayores en las vacas tratadas con dispositivos de progesterona, estradiol y eCG (48,7%) que en aquellas tratadas con el protocolo Ovsynch con dispositivos de progesterona (39,3%; Veneranda et al., 2006; 2008). El tratamiento de las vacas lecheras lactantes en Brasil con eCG ha resultado en diferencias en las tasas de preñez entre vacas con condición corporal más baja (<2,75; Souza et al., 2009); las tasas de preñez fueron más altas en aquellos tratados con eCG (38,0%) que en aquellas no tratados con eCG (15,2%). Por el contrario, las tasas de preñez no difirieron en las vacas con condición corporal > 2,75 (29,9% vs. 33,1%).

Se realizaron dos experimentos en Nueva Zelanda para comparar la respuesta reproductiva de las vacas lecheras en lactación con partos estacionales, diagnosticadas con AA por palpación rectal (Bryan et al., 2010). En el primer experimento, la adición de eCG a un protocolo de tratamiento con estradiol y progesterona resultó en un aumento de las tasas de P/IA (eCG: 48,9% vs. no eCG: 43,1%), especialmente en vacas de más de 5 años. Se diseñó un estudio de seguimiento para evaluar el efecto de agregar eCG a un protocolo de sincronización con dispositivo con progesterona y GnRH, en el mismo tipo de vacas lecheras de Nueva Zelanda (Bryan et al., 2013).

Las vacas en quince granjas lecheras comerciales (n = 1991) se seleccionaron para su inclusión en base al estro no observado 21 días antes del inicio planificado del servicio (PSM) y se diagnosticaron como AA mediante palpación rectal. El protocolo utilizado fue un diseño factorial 2 x 2; tratamiento con o sin eCG y tratamiento con dispositivo de progesterona durante 6 o 7 días. En el día 0, a todas las vacas se les colocaron un dispositivo intravaginal de progesterona y recibieron 100 µg de GnRH y se asignaron al azar para que les retiraran el dispositivo y recibieran PGF en los días 6 o 7. Dentro de cada grupo, las vacas se subdividieron para recibir 400 UI de eCG o nada de eCG (grupo control) en el momento del retiro del dispositivo de progesterona. Todas las vacas fueron inseminadas al estro detectado, y si no se detectó el estro 56 o 72 horas después del retiro del dispositivo de progesterona, las vacas recibieron una segunda inyección de GnRH y se inseminaron a las 72 horas. Los resultados primarios considerados fueron tasa de preñez a los 7 días, 28 días y días hasta la concepción. No hubo diferencias significativas entre un protocolo de tratamiento de progesterona de 6 o 7 días, y no hubo interacciones de 6/7 días con el tratamiento con eCG. Sin embargo, la inclusión de eCG en un programa de sincronización de GnRH más progesterona aumentó significativamente la tasa de preñez a los 7 días, a los 28 días y redujo la mediana de días a la concepción. En general, el tratamiento con eCG aumentó la tasa de preñez a los 28 días del 50,4% al 56,2%. Los resultados confirman que la adición de eCG a los protocolos de sincronización para las vacas con anestro en los rodeos lecheros de parto estacional en Nueva Zelanda es valiosa para que más vacas queden preñadas al principio de la temporada de reproducción.

En otro estudio realizado en Australia por Beggs y Kelly (2012), 2596 vacas con más de 30 días posparto de cinco rodeos lecheros de cría estacional del sur de Australia se asignaron al azar a un grupo de control o tratamiento. Todas las vacas fueron tratadas con un protocolo Ovsynch (sin un dispositivo de progesterona) y la mitad de ellas también recibió 400 UI de eCG en el momento del tratamiento con PGF. Se observó una diferencia significativa en las tasas de concepción al primer servicio en las 754 vacas de más de 6 años (24,6% contra 31,9%). El día medio de concepción para las 378 vacas de más de 6 años preñadas en el día 42 fue casi cuatro días menos (12,4 frente a 8,8 días). Este ensayo apoya el uso de eCG en programas de sincronización de todo el rodeo, y es consistente con otros trabajos que sugieren que el efecto de eCG puede ser mayor en vacas o rodeos donde existen otros factores de riesgo para la reducción de la fertilidad. En un estudio más reciente (Rowe et al., 2019), al incluir eCG en un programa GnRH más progesterona e IATF en

vacas lecheras en un sistema pastoril en Queensland, Australia tendió a aumentar las tasas de preñez a la primera IA (44,0 vs 37,7%) e incrementó significativamente las tasas de preñez a los 42 días de gestación (47,2% vs 39,3%; $P < 0,04$).

Se realizaron dos experimentos adicionales en Argentina para evaluar el efecto de agregar eCG a un protocolo con dispositivo de progesterona con GnRH sobre la dinámica folicular y las tasas de preñez en vacas Holstein en lactación en un sistema de manejo mixto (es decir, 35% de pasto y 65% de grano y ensilaje; Bó et al., 2011). En el primer experimento, se utilizaron 40 vacas Holstein, $65,0 \pm 3,6$ días de lactancia, condición corporal de $2,9 \pm 0,1$ y que produjeron $32,3 \pm 3,1$ l de leche por día. En el día 0, todas las vacas recibieron un dispositivo de progesterona y GnRH. En el día 6, las vacas se dividieron en dos grupos para recibir PGF en el momento del retiro del dispositivo de progesterona (Grupo 6 días o Grupo 7 días). Cada grupo se subdividió (factorial 2×2) para recibir 400 UI de eCG al retirar el dispositivo de progesterona o ningún tratamiento. Todas las vacas recibieron una segunda GnRH 56 h después del retiro del dispositivo de progesterona y fueron IATF a las 72 horas. Las vacas fueron examinadas por ecografía transrectal para determinar la tasa de ovulación a la primera GnRH y la segunda GnRH. En el día 0, 32/40 de las vacas tenían un CL. La ovulación a la primera GnRH fue del 75%, sin diferencias entre los grupos. No hubo diferencias entre las vacas tratadas o no con eCG en cuanto a las características del folículo ovulatorio ($17,1 \pm 0,4$ mm vs. $16,2 \pm 0,5$ mm) y las concentraciones plasmáticas de progesterona en la fase luteal subsiguiente ($7,6 \pm 0,5$ vs. $7,1 \pm 0,5$ ng/ml).

En el segundo experimento, se sincronizaron 453 vacas lecheras lactantes con los mismos tratamientos. Las tasas de preñez fueron mayores en las vacas tratadas con dispositivos de progesterona durante 7 días (38%) que en las tratadas durante 6 días (27%). Sin embargo, no hubo diferencias entre las vacas tratadas (33%) o no tratadas (32%) con eCG. En otro estudio en Brasil, la adición de 400 o 600 UI de eCG a los protocolos de IATF no incrementó las tasas de P/IA en vacas lecheras de alta producción que tuvieron más de 150 días de lactación (Ferreira et al., 2013). En conjunto, los resultados de estos estudios muestran que la adición de eCG no siempre aumenta las tasas de preñez en vacas lecheras en lactación; la eCG debe reservarse para las vacas que no están ciclando y/o están restringidas nutricionalmente, y solo con folículos pequeños que no podrían ovular después de la primera y/o segunda GnRH. Las vacas lecheras de mayor producción, que generalmente tienen folículos de gran tamaño, pueden no beneficiarse de la estimulación adicional de la tasa de crecimiento del folículo dominante inducida por la eCG.

El tratamiento de las vacas lecheras en lactación con eCG también se ha estudiado en un sistema Free Stall en Brasil (Souza et al., 2009). Las tasas de preñez fueron más altas en las vacas con menor condición corporal ($< 2,75$) que fueron tratadas con eCG (38,0%) que en las que no fueron tratadas con eCG (15,2%). Por el contrario, las tasas de preñez no difirieron en las vacas con condición corporal $> 2,75$. Estos resultados confirman que la eCG aumenta las tasas de preñez en vacas con una condición corporal menor, como se describió para las vacas que amamantaban. Este estudio también mostró que las vacas que recibieron eCG tendían a tener concentraciones más altas de progesterona en plasma durante la siguiente fase luteal, lo que sugiere que el efecto beneficioso

del tratamiento con eCG está relacionado con el efecto positivo de la progesterona sobre el desarrollo del embrión y el mantenimiento de la preñez.

TRATAMIENTO CON ECG PARA MEJORAR LAS TASAS DE PREÑEZ EN RECEPTORAS DE EMBRIONES

En receptoras de embriones que estaban ciclando, un programa de progesterona de 6,5 días con estradiol en el Día 0 y eCG en el momento de la remoción del dispositivo con progesterona, produjo tasas de preñez del 49,1% en comparación con el 22,2% en el grupo control (Fuentes y Fuentes, 1997). Además, Baruselli et al. (2010) en una revisión de varios estudios informaron que el uso de eCG junto con dispositivos de progesterona aumentó significativamente las tasas de preñez en receptoras. La estrategia más común con las receptoras de embriones es el tratamiento con 400 UI de eCG en el Día 5 u 8 de un protocolo de tratamiento con estradiol/progesterona. En general, del 75 al 85% de las receptoras tratadas con este protocolo reciben un embrión (en comparación con el 50% o menos con la sincronización con PGF), las concentraciones de progesterona en plasma en el momento de la transferencia de embriones son más altas y las tasas de concepción generalmente superan el 50%, cuando tanto el embrión como las receptoras son de calidad óptima (Bó et al., 2002; Baruselli et al., 2010; 2011).

La inyección de vacas antes de la selección del folículo dominante con una dosis baja de eCG, por ejemplo, el día 5 de un protocolo basado en progesterona de 7 u 8 días, resulta en un mayor número de vacas con ovulaciones múltiples en comparación con las vacas que reciben la misma dosis de eCG en el momento del retiro del dispositivo de progesterona (después de la selección del folículo dominante). Esto ofrece una explicación de la tasa de mellizos variable observada en el ganado bovino cuando se utilizó eCG al final del tratamiento en etapas desconocidas del crecimiento del folículo (Mulvehill y Sreenan, 1977). También enfatiza la importancia de un folículo dominante en crecimiento activo y un ovocito sano en todos los animales en el momento del retiro del dispositivo de progesterona para una sincronización óptima del estro y la fertilidad.

El protocolo de tratamiento de transferencia de embriones a tiempo fijo (TETF) que utiliza benzoato de estradiol (EB), progesterona y eCG se ha evaluado en diferentes partes del mundo. En un programa comercial de transferencia de embriones en Argentina, 1309 (84.9%) de 1542 receptoras fueron preparadas para la transferencia de embriones y 692 (44.9%) quedaron preñadas después de la transferencia directa (Bó et al., 2004). En un programa comercial de transferencia de embriones en Brasil, Nasser (pers. Com.) obtuvo 5.801 (46,1%) preñeces a los 30 días y 5,271 (41,7%) a los 60 días de gestación luego de la transferencia de 12.580 embriones frescos producidos in vitro (PIV). En otro estudio con 988 receptoras de embriones de PIV congelados y descongelados en China (Remillard et al., 2006), las tasas de preñez en general fueron significativamente más altas en las vacas tratadas con eCG debido al mayor porcentaje de receptoras que recibieron embriones. En un estudio en México con 949 receptoras con influencia Brahman, el tratamiento con eCG aumentó el número de receptoras que recibieron un embrión, con tasas de concepción similares, pero que dieron

como resultado tasas de preñez más altas (Looney et al., 2010).

La adición de eCG también se ha evaluado en receptoras de carne *Bos taurus* sincronizadas con un protocolo de progesterona y GnRH para TETF (Small et al. 2007). Las tasas de receptoras aptas para transferencia (con un CL) no difirieron si las vacas recibieron o no un dispositivo con progesterona (93,4% vs. 85,5%) o eCG (91,0% vs. 87,8%). Además, las tasas de preñez no difirieron si las vacas recibieron o no un dispositivo con progesterona (32,3% frente a 32,4%) o eCG (35,2% frente a 29,2%). Por otro lado, la adición de eCG a un protocolo de GnRH más progesterona aumentó significativamente las tasas de preñez en un estudio realizado en Colombia (Mayor et al., 2008). En este estudio, vaquillonas *Bos indicus* x *Bos taurus* se asignaron al azar a uno de los tres grupos de tratamiento. Las vaquillonas en el grupo de control recibieron un dispositivo de progesterona y 2 mg de EB en el Día 0 y PGF más 400 UI de eCG en el Día 5. Los dispositivos de progesterona se retiraron el Día 8 y se administró 1 mg de EB el Día 9. Las vaquillonas en el grupo con GnRH recibieron un dispositivo de progesterona y GnRH en el Día 0, PGF al retiro del dispositivo de progesterona en el Día 7 y GnRH en el Día 9. Las vaquillonas en el grupo GnRH + eCG fueron tratadas de manera similar, excepto que también recibieron 400 UI de eCG en el Día 3. Todas las vaquillonas con un CL > 16 mm de diámetro recibieron un embrión congelado y descongelado por transferencia directa 7 días después de la GnRH o 8 días después de la EB. El número de receptoras seleccionadas/tratadas fue mayor en los grupos EB + eCG (70,0%) y GnRH + eCG (72,5%) que en el grupo GnRH sin eCG (47,5%). Las tasas de concepción y preñez también fueron significativamente más altas en las receptoras de los grupos EB + eCG (57,1% y 40%) y GnRH + eCG (61,5% y 40%) que en el grupo GnRH sin eCG (47% y 22,5%). En resumen, la adición de eCG a los protocolos basados en estradiol o GnRH para TETF que incluyen un dispositivo de progesterona produjo un aumento en las tasas de preñez dependiendo del tipo de receptoras. Sin embargo, el tratamiento con eCG puede no beneficiar a las receptoras de carne *Bos taurus* manejados en condiciones óptimas.

Los beneficios del protocolo J-Synch sobre la fertilidad de las receptoras se han confirmado en un programa de sincronización que incluye 945 embriones de PIV (Menchaca et al., 2015). En este experimento, vacas Hereford se trataron con el tratamiento convencional basado en estradiol/dispositivo de progesterona o el protocolo J-Synch; todas recibieron 400 UI de eCG al retirar el dispositivo. La tasa de preñez después de TETF 7 u 8 días después de la GnRH (J-Synch) o 9 o 10 días después de la ECP (convencional) fue mayor en las receptoras sincronizadas con el protocolo J-Synch (49,3%) que aquellas en las que se usó el protocolo convencional basado en estradiol/progesterona (40,9%).

EL USO DE ECG EN PROTOCOLOS DE RESINCRONIZACIÓN

Los protocolos de resincronización también se han desarrollado para reducir el intervalo entre la IATF y la re-inseminación de animales no preñados (Baruselli et al., 2015; Bó et al., 2016). Tradicionalmente, la resincronización se realizó en el diagnóstico de preñez 28 a 32 días después de la IATF, utilizando uno de los muchos protocolos desarrollados para la

IATF. La eCG también se ha utilizado en los protocolos de resincronización, a menudo con beneficios algo inesperados.

Se ha informado que la incidencia de mortalidad embrionaria temprana es alta en el ganado lechero moderno, pero la incidencia de la mortalidad embrionaria temprana en vacas lecheras en lactancia o en vacas lecheras en un sistema pastoril es incierta y probablemente más baja (McDougall et al., 2005). Cutaia et al. (2009) informaron que la administración de 400 UI de eCG 14 días después de la IATF en vacas de carne primiparas con cría al pie y con condición corporal regular a pobre, aumentó las tasas de preñez determinadas 30 días después de la IATF (eCG: 47,2% versus no eCG: 30,8%). Además, Vilches y Bartolome (observaciones no publicadas) informaron que este tratamiento redujo las pérdidas embrionarias entre los 33 y los 75 días de preñez del 17,2% en controles al 2,7% en animales tratados con eCG. En otro estudio, Núñez et al. (2011) trataron vacas de carne en AA con 400 UI de eCG en el momento del retiro del dispositivo de progesterona o 14 días después de la IATF (o ambas) con un protocolo de estradiol/progesterona en un diseño factorial de 2 X 2. La tasa de preñez a los 30 días después de la IATF fue de 38,4% en el grupo control, 51,4% en las vacas que recibieron eCG el día del retiro del dispositivo de progesterona, 44,4% en las que recibieron eCG el Día 14 y 57,9% en las tratadas con eCG en ambos momentos.

Las tasas de pérdida embrionaria/fetal (vacas no preñadas a los 60 días después de la IATF sobre las preñadas a los 30 días) fueron del 4,5% sin diferencias entre los grupos. Se concluyó que la administración de 400 UI de eCG al retirar el dispositivo aumenta la tasa de preñez, tanto en vacas en anestro como en vaquillonas. Sin embargo, el beneficio de una segunda dosis de eCG 14 días después de IATF sugiere un posible efecto sobre la supervivencia del embrión dentro de los primeros 30 días de la preñez en vacas que previamente experimentaron AA, pero los datos no fueron convincentes para las vaquillonas. Del mismo modo, Lemes et al. (2011) encontraron que la administración de 400 UI de eCG 14 días después de la IATF no aumentó la eficiencia reproductiva en las vacas Nelore durante el parto, y Mattos et al. (2011) encontraron que el uso de eCG 7 días después de la transferencia de embriones no mejoró las tasas de concepción en el ganado *Bos indicus* utilizado como receptoras de embriones. Estos resultados contradictorios obviamente requieren un estudio adicional, especialmente en las razas indicas.

CONCLUSION

El uso de eCG como un medio para reducir la mortalidad embrionaria/fetal temprana también parece ser digno de un examen más detenido. En este sentido, Bartolome (2009) informó que una dosis de 400 UI de eCG administrada 22 días después de la IATF en vacas lecheras lactantes en Argentina produjo un aumento en las tasas de preñez medidas al Día 29 (37,1% versus 45,7% en el grupo control y las vacas tratadas con eCG, respectivamente), y cuando se combinaron con una inyección de 2500 UI de hCG en el día 29, redujeron la pérdida embrionaria a 2,6%. Estos efectos son enormes y realmente necesitan ser investigados más a fondo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Alila HW, Hansel W. Origin of different cell types in the bovine corpus luteum as characterized by specific monoclonal antibodies. *Biol Reprod.* 1984;31(5):1015-1025. doi:10.1095/biolreprod31.5.1015
- Bartolome J. Mortalidad embrionaria y fetal temprana de origen no infeccioso en vacas lecheras. In: Proc VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina (Ed. D. Moreno and G.A. Bó) Instituto de Reproducción Animal Córdoba CD. 2009.
- Baruselli PS, Marques MO, Nasser LFT, Reis EL, Bó GA. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-B devices for timed artificial insemination. *Theriogenology*, 2003; 59:214 (abstract).
- Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bó GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci.* 2004;82-83:479-486. doi:10.1016/j.anireprosci.2004.04.025
- Baruselli PS, Ferreira RM, Sá Filho MF, Nasser LF, Rodrigues CA, Bó GA. Bovine embryo transfer recipient synchronisation and management in tropical environments. *Reprod Fertil Dev.* 2010;22(1):67-74. doi:10.1071/RD09214
- Baruselli PS, Ferreira RM, Sales JN, et al. Timed embryo transfer programs for management of donor and recipient cattle. *Theriogenology.* 2011;76(9):1583-1593. doi:10.1016/j.theriogenology.2011.06.006
- Baruselli PS, Vieira LM, Sá Filho MF, Marques MO. Resynchronization programs in beef and dairy cattle. In: Proc XI Symposium on Animal Reproduction. Córdoba, Argentina (Ed. M. Caccia, G.A. Bó) Instituto de Reproducción Animal Córdoba; 2015; pp 235-256.
- Beggs DS, Kelly JC. The effect of eCG given as part of an Ovsynch Program for whole herd synchrony in five Australian seasonal calving dairy herds. XXVII World Buiatrics Congress, Lisbon, Portugal. 2012.
- Bó GA, Baruselli PS, Moreno D, et al. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology.* 2002;57(1):53-72. doi:10.1016/s0093-691x(01)00657-4.
- Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci.* 2003;78(3-4):307-326. doi:10.1016/s0378-4320(03)00097-6
- Bó GA, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tribulo RJ, Tribulo H. Transferencia de embriones a tiempo fijo: tratamientos y factores que afectan los índices de preñez. *Taurus*, 2004; 21:25-40.
- Bó GA, Cutaia L, Peres LC, Pincinato D, Marañón D, Baruselli PS. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. *Soc Reprod Fertil Suppl.* 2007;64:223-236. doi:10.5661/rdr-vi-223
- Bó GA, Cutaia LE, Bartolome J. Uso de la eCG asociado a programas reproductivos en vacas lecheras. In: Proc IX Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina Instituto de Reproducción Animal Córdoba, 2011; pp 127-150.
- Bó GA, de la Mata JJ, Baruselli PS, Menchaca A. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology.* 2016;86(1):388-396. doi:10.1016/j.theriogenology.2016.04.053
- Bridges GA, Helser LA, Grum DE, Mussard ML, Gasser CL, Day ML. Decreasing the interval between GnRH and PGF2alpha from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology.* 2008;69(7):843-851. doi:10.1016/j.theriogenology.2007.12.011.
- Bryan MA, Bó GA, Heuer C, Emslie FR. Use of equine chorionic gonadotrophin in synchronised AI of seasonal-breeding, pasture-based, anoestrous dairy cattle. *Reprod Fertil Dev.* 2010;22(1):126-131. doi:10.1071/RD09225
- Bryan MA, Bó G, Mapletoft RJ, Emslie FR. The use of equine chorionic gonadotropin in the treatment of anoestrous dairy cows in gonadotropin-releasing hormone/progesterone protocols of 6 or 7 days. *J Dairy Sci.* 2013;96(1):122-131. doi:10.3168/jds.2012-5452
- Butler WR. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci.* 2000;60-61:449-457. doi:10.1016/s0378-4320(00)00076-2
- Cutaia L, Tribulo R, Moreno D, Bó GA. (Pregnancy rates in lactating beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and equine chorionic gonadotropin (eCG). *Theriogenology*, 2003; 59:216 (abstract).
- Cutaia L, Ramos M, Chesta P, Bó GA. Efecto de la aplicación de eCG 14 días después de la IATF en vacas de carne con cría tratadas con dispositivos con progesterona. In: Proc 'VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina (Ed. D. Moreno and G.A. Bó) CD. 2009.
- de la Mata JJ, Núñez-Olivera R, Cuadro F, et al. Effects of extending the length of pro-oestrus in an oestradiol- and progesterone-based oestrus synchronisation program on ovarian function, uterine environment and pregnancy establishment in beef heifers. *Reprod Fertil Dev.* 2018;30(11):1541-1552. doi:10.1071/RD17473
- Ferreira RM, Ayres H, Sales JN, Souza AH, Rodrigues CA, Baruselli PS. Effect of different doses of equine chorionic gonadotropin on follicular and luteal dynamics and P/AI of high-producing Holstein cows. *Anim Reprod Sci.* 2013;140(1-2):26-33. doi:10.1016/j.anireprosci.2013.04.014
- Fuentes S, De la Fuente J. Different synchronization treatments for direct embryo transfer to recipients' heifers. Proc XIII Annual Meeting AETE, Lyon, France, 1997; p.148 (abstract).
- Garrett JE, Geisert RD, Zavy MT, Morgan GL. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J Reprod Fertil.* 1988;84(2):437-446. doi:10.1530/jrf.0.0840437
- Gong JG. Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: practical implications. *Domest Anim Endocrinol.* 2002;23(1-2):229-241. doi:10.1016/s0739-7240(02)00159-5

- Gümen A, Guenther JN, Wiltbank MC. Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2003;86(10):3184-3194. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73921-6
- Huguenine E, Peracchia S, Benitez R, Martini H, Cledou G, Bó GA, Callejas S. Effect of the utilization of 5-day Co-Synch protocols combined or not with eCG in suckled cows in postpartum anoestrus. In: *Proc X Simposio Internacional de Reproduccion Animal Cordoba, Argentina* (Ed. D. Moreno and G.A. Bó), 2013; p. 313 (abstract).
- LeBlanc S. The Ovsynch breeding program for dairy cows – A review and economic perspective. *The Bovine Pract.* 2001; 35:13-22.
- Lemes AP, Rodrigues ADP, Peres RFG, Graff HB, Carvalho ER, Souza AH, Sartori R. Conception rates in postpartum Nelore cows treated with eCG before and after fixed-time artificial insemination. *Acta Sci Vet.* 2011; 39(Suppl 1): (abstract).
- Looney CR, Stutts KJ, Novicke AK, Chiles KC, Tijernia SE, Miranda AR, Romo S, Forrest DW. Advancements in estrus synchronization of Brahman-influenced embryo transfer recipient females. In: *Proceedings AETA & CETA/ACTE Joint Convention, Charlotte, North Carolina, USA.* 2010; pp. 17-22.
- Lucy MC. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end?. *J Dairy Sci.* 2001;84(6):1277-1293. doi:10.3168/jds.S0022-0302(01)70158-0
- Mann GE, Fray MD, Lamming GE. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-tau production in the cow. *Vet J.* 2006;171(3):500-503. doi:10.1016/j.tvjl.2004.12.005
- Marquezini GH, Mercadante VR, Olson KC, et al. Effects of equine chorionic gonadotropin on follicle development and pregnancy rates in suckled beef cows with or without calf removal. *J Anim Sci.* 2013;91(3):1216-1224. doi:10.2527/jas.2012-5382
- Mattos MCC, Bastos MR, Oliveira ACS, Gonçalves JRS, Oliveira TA, Mourão GB, Sartori R. Use of equine chorionic gonadotropin after embryo transfer in Nelore and crossbred recipient cattle. *Reprod Fertile Dev.* 2011; 23:177 (abstract).
- Mayor JC, Tribulo HE, Bó GA. Pregnancy rates following fixed-time embryo transfer in *Bos indicus* recipients synchronized with progestin devices and estradiol or GnRH and treated with eCG. In: *Proc 16th ICAR, Budapest, Reprod Dom Anim.* 2008; 43 (Suppl 3):180 (abstract).
- McDougall S, Rhodes FM, Verkerk G. Pregnancy loss in dairy cattle in the Waikato region of New Zealand. *N Z Vet J.* 2005;53(5):279-287. doi:10.1080/00480169.2005.36561
- Menchaca A, Dutra S, Carrau JM, Sapriza F, Salazar J, de la Mata JJ, et al. Improvement of pregnancy rates by using the 6-day J-Synch protocol in recipient cows transferred with in vitro produced embryos. *Anim Reprod.* 2015; 12:653 (abstract).
- Meneghetti M, Sá Filho OG, Peres RF, Lamb GC, Vasconcelos JL. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. *Theriogenology.* 2009;72(2):179-189. doi:10.1016/j.theriogenology.2009.02.010.
- Monget P, Froment P, Moreau C, Grimard B, Dupont J. Metabolism and bovine reproduction. *Le Medecin Veterinaire du Quebec.* 2004; 34:69-71.
- Mulvehill P, Sreenan JM. Improvement of fertility in postpartum beef cows by treatment with PMSG and progesterone. *J Reprod Fert.* 1977;50(2):323-325. doi:10.1530/jrf.0.0500323
- Murphy BD and Martinuk SD. Equine chorionic gonadotropin. *Endocr Rev.* 1991; 12: 27-44.
- Núñez R, de Castro T, Cutaia L, Bó G, Menchaca A. Pregnancy rates after administration of equine chorionic gonadotropin (eCG) at progesterone intravaginal device removal and 14 days after fixed-time AI in beef cattle. *Reprod Fertile Dev.* 2011; 23:162 (abstract).
- Núñez-Olivera R, de Castro T, García-Pintos C, Bó G, Piaggio J, Menchaca A. Ovulatory response and luteal function after eCG administration at the end of a progesterone and estradiol based treatment in postpartum anestrous beef cattle. *Anim Reprod Sci.* 2014;146(3-4):111-116. doi:10.1016/j.anireprosci.2014.02.017
- Penteado L, Ayres H, Madureira EH, Baruselli PS. Efeito do desmame temporário na taxa de prenhez de vacas Nelore lactantes inseminadas em tempo fixo. *Acta Sci Vet.* 2004; 32 (Suppl): 223.
- Pincinato D. Follicular dynamics and fertility in beef suckled cows synchronized with progesterone releasing devices and GnRH. Master of Science Thesis. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Cordoba, Argentina. 2012.
- Remillard R, Martínez MF, Bó GA, Mapletoft RJ. The use of fixed-time techniques and eCG to synchronize recipients for frozen-thawed bovine IVF embryos. *Reprod Fertile Dev.* 2006; 18: 204 (abstract).
- Rhodes FM, McDougall S, Burke CR, Verkerk GA, Macmillan KL. Invited review: Treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. *J Dairy Sci.* 2003;86(6):1876-1894. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73775-8
- Rowe SM, Pryor L, Tranter WP, Hosie J, Cavalieri J. Effect of equine chorionic gonadotropin on reproductive performance in a dairy herd in Northern Queensland, Australia. *Theriogenology.* 2019;125:30-36. doi:10.1016/j.theriogenology.2018.10.016
- Sá Filho OG, Meneghetti M, Peres RF, Lamb GC, Vasconcelos JL. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology.* 2009;72(2):210-218. doi:10.1016/j.theriogenology.2009.02.008
- 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.* 2010;73(5):651-658. doi:10.1016/j.theriogenology.2009.11.004

- Santos JE, Thatcher WW, Pool L, Overton MW. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. *J Anim Sci.* 2001;79(11):2881-2894. doi:10.2527/2001.79112881x
- Small JA, Colazo MG, Kastelic JP, Ward DR, Dochi O, Mapletoft RJ. The effects of CIDR and eCG treatment in a GnRH-based protocol for timed-AI or embryo transfer on pregnancy rates in lactating beef cows. *Reprod Fertil Dev*, 2007; 19:127 (abstract).
- Small JA, Colazo MG, Kastelic JP, Mapletoft RJ. Effects of progesterone presynchronization and eCG on pregnancy rates to GnRH-based, timed-AI in beef cattle. *Theriogenology.* 2009;71(4):698-706. doi:10.1016/j.theriogenology.2008.09.045
- Souza AH, Viechnieski S, Lima FA, et al. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. *Theriogenology.* 2009;72(1):10-21. doi:10.1016/j.theriogenology.2008.12.025
- Soto Belloso E, Portillo Martínez G, De Ondiz A, et al. Improvement of reproductive performance in crossbred zebu anestrous primiparous cows by treatment with norgestomet implants or 96 h calf removal. *Theriogenology.* 2002;57(5):1503-1510. doi:10.1016/s0093-691x(02)00642-8
- Vasconcelos JL, Sartori R, Oliveira HN, Guenther JG, Wiltbank MC. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology.* 2001;56(2):307-314. doi:10.1016/s0093-691x(01)00565-9
- Veneranda G, Filippi L, Racca D, Romero G, Balla E, Cutaia L, Bó GA. Pregnancy rates in dairy cows treated with intravaginal progesterone devices and different fixed-time AI protocols. *Reprod Fertil Dev*, 2006; 18:118 (abstract).
- Veneranda G, Filippi L, Racca D, Cutaia L, Bó GA. Pregnancy rates in dairy cows treated with intravaginal progesterone devices and GnRH or estradiol benzoate and eCG. *Reprod Fertil Dev*, 2008; 20:91 (abstract).
- Webb R, Garnsworthy PC, Gong JG, Robinson RS, Wathes DC. Consequences for reproductive function of metabolic adaptation to load. *British Society Animal Science, Occasional Publication.* No. 1999; 24:99-112.
- Wiltbank MC, Gümen A, Sartori R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology.* 2002;57(1):21-52. doi:10.1016/s0093-691x(01)00656-2
- Wiltbank M, Lopez H, Sartori R, Sangsritavong S, Gümen A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology.* 2006;65(1):17-29. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.10.003
- Yavas Y, Walton JS. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. *Theriogenology.* 2000;54(1):25-55. doi:10.1016/S0093-691X(00)00323-X