

Universidad Nacional de Córdoba

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela para Graduados

Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC)

***UTILIZACIÓN DE GONADOTROFINA CORIÓNICAEQUINA (eCG) EN VACAS DE CARNE, SOBRE LA TASA DE PREÑEZ Y PÉRDIDAS EMBRIONARIAS EN UN PROGRAMA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO***

Richard Núñez Olivera

**Trabajo Final**

Para optar al Título de Especialista en Reproducción Bovina

Córdoba, 2011

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado en establecimientos comerciales ubicados en distintos departamentos de nuestro país. La financiación para el mismo fue provista por el Laboratorio Syntex Uruguay, el Instituto Reproducción Animal Uruguay (IRAUy), Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) – FMV 3111.

Mis agradecimientos van dirigidos a:

- ✓ A Alejo Menchaca, por la dirección y colaboración en la realización de este trabajo.
- ✓ A Teresa de Castro, por colaborar de manera desinteresada en tareas puntuales.
- ✓ A Gabriel Bó, por su ayuda en distintos momentos de la realización de la Especialidad.
- ✓ A mis compañeros del IRAUy, por su ayuda y colaboración en distintos momentos de este trabajo.
- ✓ A Reynaldo Bonino y Andrés Peñagaricano, Médico Veterinario e Ingeniero Agrónomo de los establecimientos “Loma Azul” y “San Sebastián” y a Federico Rubio, propietario de los mismos.
- ✓ A Gonzalo Valdés, propietario del establecimiento “La Ganadera”.
- ✓ A Guzmán López, Médico Veterinario y propietario del establecimiento “La Rosada”.
- ✓ A Pablo Bonasso, Ingeniero Agrónomo y propietario del establecimiento “Santa Clara”
- ✓ A todos ellos por colaborar y participar en el trabajo de campo que aquí se presenta.
- ✓ A mi familia y amigos por estar siempre presentes y por su apoyo incondicional que me animan a seguir adelante.

## RESUMEN

Las pérdidas embrionarias son una importante limitante para la eficiencia reproductiva en rumiantes que, en su mayoría, ocurren 16-18 días luego de la fecundación (período crítico del desarrollo embrionario). Altas concentraciones séricas de progesterona durante este período se asocian a menores pérdidas embrionarias, por lo que el uso de eCG podría favorecer la actividad luteal debido a su efecto LH. Con el objetivo de estudiar el uso de la eCG para disminuir las pérdidas embrionarias se realizaron 2 experimentos en los que se evaluó el uso de eCG previo a la ovulación (Grupo eCG al retiro del DIB), 14 días más tarde (Grupo eCG al Día 14 pos IATF), y en ambos momentos (Grupo eCG al retiro del DIB & al Día 14 pos IATF), comparados con un Grupo Control sin eCG. El día de la ovulación (estimada) se realizó la inseminación y fue considerado como Día 0. Al Día 30 se determinó la tasa de preñez por ultrasonografía y las pérdidas embrionarias o fetales hasta el Día 60. El diseño experimental se repitió en vacas multíparas y nulíparas. El tratamiento mostró efecto sobre la tasa de preñez en vacas a los 30 días luego de la inseminación, siendo de 43,1% (31/72), 62,5% (45/72), 55,8% (43/77) y 82,9% (63/76), para los grupos Control sin eCG, eCG al retiro DIB, eCG al día 14 pos IATF y eCG en ambos momentos, respectivamente ( $P < 0,05$ ). Las tasas de pérdidas embrionarias o fetales tempranas (vacías a los 60 días luego de la inseminación sobre las preñadas a los 30 días) fue de 1,6% (3/182) para las vacas y 4,8% (14/292) para las vaquillonas, no detectándose diferencias entre los grupos experimentales. En conclusión, la administración de 400 UI de eCG al momento de retirar el dispositivo aumenta la tasa de preñez, tanto en vacas como en vaquillonas en ausencia de cuerpo lúteo. La administración de una segunda dosis de eCG 14 días luego de la IATF sugiere un posible efecto de supervivencia del embrión en los primeros 30 días de gestación en vacas, no observándose el mismo efecto en vaquillonas.

## INTRODUCCIÓN

La tasa reproductiva en los rodeos bovinos en los países de la región es considerablemente baja, no superando el 65% de crías producidas de las hembras destinadas al servicio cada año. Varias alternativas han sido propuestas para mejorar la tasa de concepción mejorando las condiciones previas al servicio, sin embargo, una limitante casi ignorada es el alto porcentaje de pérdidas luego del servicio durante la preñez temprana. La mayoría de estas pérdidas ocurren durante el período embrionario de la gestación (Thatcher *et al.*, 1994; Vanroose *et al.*, 2000; Sreenan *et al.*, 2001), gran parte de ellas se producen en los primeros días después de la fecundación y durante la implantación del embrión (Wathes *et al.*, 1992).

Las pérdidas por mortalidad embrionaria hacen referencia a las pérdidas que ocurren durante los primeros 45 días de gestación que coincide con la finalización del período de implantación del embrión (Ayalon, 1978). Pueden ser clasificadas en mortalidad embrionaria temprana, cuando ocurre dentro de los 25 días y mortalidad embrionaria tardía, cuando ocurre entre los 25 y 45 días (Humbolt, 2002). Los términos muerte fetal o abortos se refieren a las pérdidas que ocurren entre los 45 y 260 días de gestación (Forar *et al.*, 1996; Silke *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2004).

La implantación del embrión suele ocurrir durante la fase de elongación del blastocito, esto ocurre aproximadamente entre los días 11 y 13 luego de la fertilización. Hacia el día 15 se ponen en contacto las microvellosidades de la superficie del epitelio endometrial con las suaves membranas plasmáticas de las células que rodean el embrión (Thatcher *et al.* 1996). La acción antiluteolítica del embrión se ejerce por medio de varias proteínas que pueden bloquear la síntesis de prostaglandina F<sub>2</sub> alpha (PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ) por la mucosa uterina. Estas proteínas están reguladas por el interferón-tau (IFN- $\tau$ ), producido en los rumiantes antes de iniciarse el período de implantación. Su función primaria es informar de la presencia del embrión y rescatar al cuerpo lúteo de la luteólisis para que se transforme en cuerpo lúteo de gestación, en la vaca esto ocurre aproximadamente el día 16 y es considerado como el "período crítico". El reconocimiento materno de la presencia del embrión debe ocurrir antes de la luteólisis para que la gestación continúe.

Niveles bajos de progesterona en el primer mes de gestación están asociados a una mayor incidencia de pérdidas embrionarias tempranas (Garrett, 1988; Perry, 2005; Mann, 2006). Estos bajos niveles de progesterona van a resultar en una mayor pulsatilidad de la hormona luteinizante (LH) durante el diestro y estimular el crecimiento folicular, un excesivo crecimiento folicular y por ende altos niveles de estradiol (E2) durante la fase luteal también pueden ser perjudiciales para la vida del embrión (Pritchard *et al.* 1994; Inskoop, 1995; Bridges *et al.*, 2000). La presencia del embrión durante el día 16 del ciclo inhibe la síntesis y liberación de PGF2 $\alpha$  por el endometrio (Geisert *et al.*, 1994; Mann *et al.*, 1999; Thatcher *et al.*, 2001; Okuda *et al.*, 2002), lo que impide la luteólisis y la consiguiente disminución en la producción de progesterona.

La Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) es una glicoproteína compleja con actividad semejante a las hormonas foliculo estimulante y luteinizante (FSH y LH, respectivamente). Tiene una vida media de aproximadamente 2 días en la vaca y persiste por más de 10 días en la circulación sanguínea (Murphy y Martinuk, 1991). La eCG administrada algunas horas previo a la ovulación estimula el crecimiento folicular a través de su acción de FSH y LH, aumenta el tamaño del foliculo preovulatorio, incrementa las concentraciones plasmáticas de progesterona luego de la ovulación, mejorando así el desarrollo embrionario y el mantenimiento de la preñez (Baruselli *et al.*, 2004). La utilización de 400 UI de eCG al momento de retirar el dispositivo de liberación de progesterona en un tratamiento para sincronizar la ovulación, dio como resultado un aumento en la concentración de progesterona en plasma y en las tasas de preñez en vacas con cría al pie tratadas durante el anestro posparto (Baruselli *et al.*, 2004; Bó *et al.*, 2007).

Una apropiada diferenciación y función del cuerpo lúteo es esencial para la sincronización del desarrollo embrionario y uterino (Thatcher, 1994) y las concentraciones plasmáticas de progesterona se correlacionan positivamente con la producción de IFN- $\tau$ , lo cual sugiere que altos niveles de progesterona proveen un medio más adecuado para el desarrollo embrionario (Kerbler, 1997). La estimulación y sincronización del crecimiento folicular conjuntamente con la ovulación de esos folículos y formación de cuerpos lúteos accesorios, previo al período crítico, incrementaría la producción de progesterona y podría ser una alternativa para reducir pérdidas de gestación. Esto adquiere mayor importancia aún en programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) donde la tasa de preñez no supera el 50% en promedio, lo que probablemente podría ser mejorado al disminuir las

pérdidas embrionarias tempranas. Resultados previos en la región, donde se utilizó 400 UI eCG 14 días luego de la IATF en vacas con cría cruzada *Bos taurus x Bos indicus*, sugieren un efecto favorable sobre la tasa de preñez (Cutaia *et al.*, 2010).

La implementación de una estrategia de este tipo se verá favorecida en estos programas con IATF donde los eventos reproductivos están sistematizados y sincronizados en todo el rodeo, siendo desde el punto de vista práctico, muy sencillo administrar una dosis de eCG en un momento predeterminado luego de la inseminación.

### Reconocimiento Materno de la Gestación

El reconocimiento materno de la preñez en rumiantes ocurre mediante la acción de una proteína compuesta por 172 aminoácidos, sintetizada por las células trofoblásticas del blastocito, denominada interferón tau (INF- $\tau$ ). El INF- $\tau$  es expresado en rumiantes y representa una de las cinco familias de interferón de tipo I, clasificados como IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\delta$ , IFN- $\omega$  e IFN- $\tau$ . Anteriormente a la identificación del IFN- $\tau$ , ya existían indicios de acción de proteínas blastocísticas en el proceso de reconocimiento de la preñez en rumiantes. Investigaciones realizadas en la década de 1960 señalaban la ocurrencia de inhibición de la luteólisis a partir de la liberación de sustancias blastocísticas antes del momento de la implantación (Moor, R.M. y Rowson, L.E.A., 1966). Posteriormente, por haber sido aisladas de las células trofoblásticas, esa sustancia fue denominada trofoblastina o proteína trofoblástica (Martal, J. *et al.*, 1979). Luego de su purificación, realizada en la especie ovina, por presentar grandes semejanzas estructurales con algunas clases de interferones pasó a ser llamada IFN- $\tau$  (Imakawa, K. *et al.*, 1987). Subsecuentemente, fue caracterizada en el concepto bovino, entre el 16° y el 24° día de preñez. El IFN- $\tau$  bovino es una proteína con peso molecular entre 22 a 24 KDa, con diferentes isoformas, diferenciándose de su análogo de las especies ovina y caprina por algunas alteraciones en su estructura bioquímica.

El proceso de luteólisis a partir de la secreción de PGF2 $\alpha$  necesita de la síntesis y secreción lútea de la oxitocina, así como de la interacción de la oxitocina circulante con sus receptores, los cuales se localizan principalmente en las células del epitelio endometrial. Los efectos antiluteolíticos del IFN- $\tau$  son traducidos a partir de su acción inhibitoria sobre la expresión de los genes que codifican para los receptores endometriales de oxitocina y de

estrógenos, sustancias estas que actúan sobre las células del endometrio, estimulándolas a producir PGF2 $\alpha$ . De esta forma, el IFN- $\tau$  regula la producción de PGF2 $\alpha$  por medio de la inhibición de su expresión en el endometrio. El IFN- $\tau$  no es observado en la circulación periférica de las hembras gestantes, siendo su acción localizada apenas en el útero.

Un claro aumento en la expresión del gen de IFN- $\tau$  ocurre del 10° al 25° día, con su pico de producción entre el 14° y el 16° día, coincidiendo con la fase de transición morfológica del blastocito, que en ese período pasa de la forma esférica para la forma filamentososa (Thomas, E.S. y Fuller, W.B., 2004). Esto hace pensar que la producción de IFN- $\tau$  parece ser más dependiente del desarrollo blastocístico propiamente que del día de la preñez. En el momento del pico de producción, su ARN mensajero (mRNA) está presente en el blastocito en niveles más elevados que cualquier otro mRNA. Aunque la expresión del gen parezca ser genéticamente programada e independiente del ambiente uterino, considerando que su expresión ocurre también *in vitro*, ese proceso es en gran parte afectado por sus concentraciones plasmáticas de progesterona. La suplementación de progesterona en el inicio de la preñez, ayuda al desarrollo del blastocito, aumentando los niveles de IFN- $\tau$  en el útero y disminuyendo los índices de pérdida de preñez en el transcurrir de ese período (Mann, G.E. y Lamming, G.E., 1999). La disminución en la expresión del IFN- $\tau$  parece ser dependiente del proceso de implantación, ocurriendo disminución en la medida que determinadas regiones del trofoblasto comienzan a establecer contacto con el epitelio uterino (Thatcher *et al.* 1997; Spencer *et al.*, 2004).

### *Problemática Específica*

Como fue descrito en los antecedentes la tasa reproductiva en Uruguay es baja y la misma puede estar afectada entre otros factores por las pérdidas en la gestación temprana. El plan de trabajo consistió en intervenir sobre ésta limitante mediante el uso de una estrategia simple, práctica y económica como lo es la aplicación de una dosis de eCG al día 14 luego de la inseminación.

El desarrollo de ésta alternativa dará lugar a la resolución de un problema técnico concreto vinculado a la eficiencia reproductiva.

## **Hipótesis**

La administración de eCG aplicada luego de la IATF disminuye las pérdidas embrionarias, produciendo un impacto positivo en la producción pecuaria al aumentar la tasa de preñez.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar el efecto del tratamiento con eCG en vacas de carne, sobre la tasa de preñez y pérdidas embrionarias posterior a una IATF.

### **Objetivos específicos**

Determinar pérdidas embrionarias al Día 30 y 60 de gestación luego de la administración de 400 UI de eCG en vacas con cría y vaquillonas:

- Al retiro del dispositivo.
- Al Día 14 luego de la IATF.
- Acción sinérgica o aditiva de ambos tratamientos.

## **METODOLOGIA**

Se realizaron 2 experimentos sobre hembras en ausencia de cuerpo lúteo, en las que se comparó la respuesta al uso de eCG. Previo a cada experimento se definió el estado fisiológico del ovario (ausencia o presencia de cuerpo lúteo, anestro o ciclando



respectivamente) mediante ecografía al momento de iniciar el tratamiento. Para este estudio se utilizaron únicamente aquellas hembras con ausencia de cuerpo lúteo. En este momento se registró el estado corporal en las vacas y vaquillonas y el peso corporal en las vaquillonas, factores que fueron considerados para el diseño balanceado de los grupos experimentales. Todas las hembras recibieron un tratamiento para IATF utilizando un dispositivo intravaginal con 0,5 g de progesterona (DIB<sup>®</sup> 0,5, Syntex, Buenos Aires, Argentina) durante 7 u 8 días asociado a una dosis de 2 mg de benzoato de estradiol (Benzoato de Estradiol<sup>®</sup>, Syntex) al momento de colocar el dispositivo intravaginal. Al retirar el dispositivo se administró una dosis de 500 µg de D (+) cloprostenol (Ciclase<sup>®</sup> DL, Syntex) y 0,5 mg de cipionato de estradiol (Cipiosyn<sup>®</sup>, Syntex). Los fármacos inyectables fueron administrados por vía intramuscular. Se realizó una inseminación entre las 52 y 56 hs luego del retiro del dispositivo, utilizando partidas de semen que resultaron aptas al examen de calidad seminal, en el que se observó motilidad individual mínima de 40%, menos del 30% de anormalidades totales con menos de 10% de anormalidades de cabeza y cuello, una concentración mínima de 8 millones de espermatozoides y que al menos 30% supere el test de termo resistencia entre 35 y 37°C durante 2 hrs. El día de la inseminación fue considerado como Día 0. Para cada experimento las vacas fueron asignadas a 4 grupos experimentales de acuerdo al siguiente arreglo 2x2 factorial:

- ❖ Grupo Control: no recibieron eCG siguiendo con el tratamiento descrito en el párrafo anterior.
- ❖ Grupo eCG al retiro del DIB: se administró 400 UI de eCG (Novormon 5000<sup>®</sup>, Syntex) al momento del retiro del dispositivo.
- ❖ Grupo eCG al Día 14 luego de la IATF: se administró 400 UI de eCG 14 días luego de la inseminación.
- ❖ Grupo eCG al retiro del DIB y al Día 14 luego de la IATF: se administró 400 UI de eCG al momento del retiro del dispositivo y 14 días luego de la inseminación.

El diseño experimental se muestra en la Figura 1.

## Experimento I:

Este experimento se realizó sobre 320 vacas con cría utilizando hembras multíparas de razas carniceras con una condición corporal de 3,5 a 4,5 (escala 1 a 8) y con un período posparto de 60 a 90 días. Los terneros recibieron una tablilla nasal el día que se colocó el dispositivo a sus madres y fueron retiradas en la tarde luego de la IATF. Las vacas fueron asignadas a los 4 grupos experimentales descritos anteriormente y el diagnóstico de gestación se realizó mediante ultrasonografía al Día 30 y 60, determinando así la tasa de preñez y las pérdidas embrionarias y fetales durante los primeros 30 y 60 días de gestación.

## Experimento II:

Este experimento se realizó sobre 864 vacas nulíparas (sin cría y en su primer servicio), vaquillonas de 2 años pertenecientes a razas carniceras con una condición corporal de 4 a 5 (escala 1 a 8). La metodología utilizada fue la descrita para el experimento anterior.

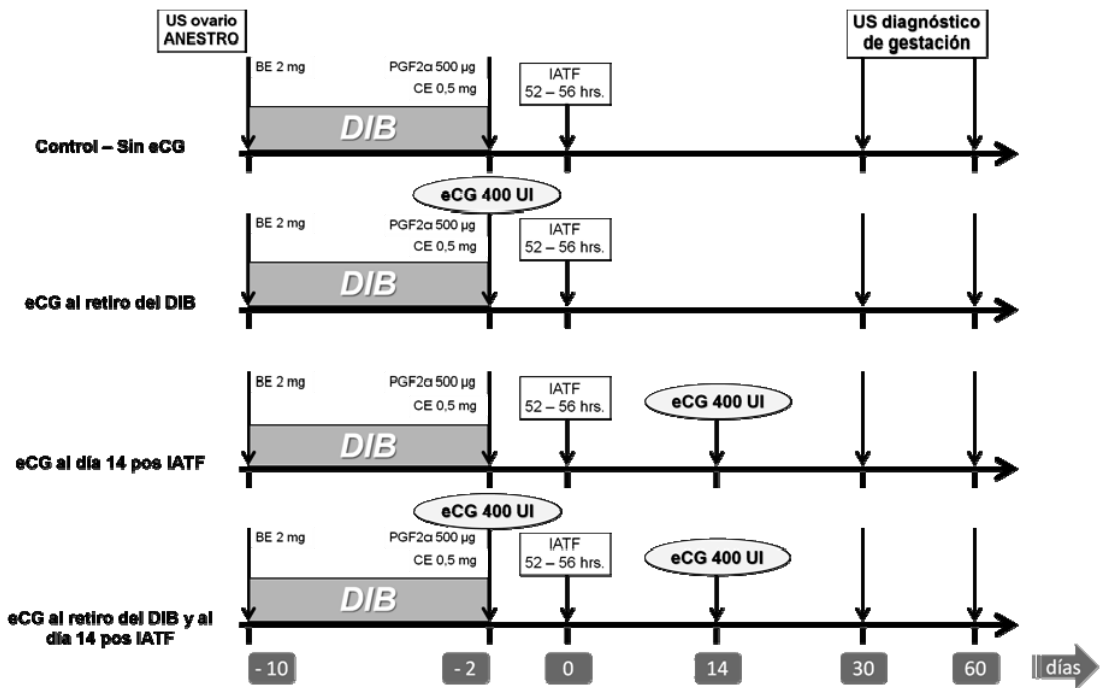


Figura 1. Esquema del diseño experimental.

### **Análisis estadístico:**

Los resultados de preñez entre los diferentes grupos fueron comparados mediante regresión logística considerando los siguientes factores: partida de semen, toro, inseminador, condición corporal y actividad ovárica al inicio del experimento. Se presentan los datos únicamente para aquellos factores que tuvieron un efecto significativo considerando un valor  $P < 0,05$ .

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Hubo un efecto significativo del uso de eCG siendo superior la tasa de preñez a los 30 días luego de la inseminación, tanto en vacas como en vaquillonas tratadas comparadas con el grupo control sin tratar. El mejor resultado se obtuvo aplicando eCG en ambos momentos ( $P < 0,05$ ; Tabla 1).

Tabla 1. Tasa de preñez a los 30 días luego de la IATF obtenida con el uso de eCG al retiro del dispositivo y/o al Día 14 luego de la inseminación.

	Vacas (n=297)	Vaquillonas (n=689)
Control – Sin eCG	43,1% (31/72) <sup>a</sup>	36,9% (66/179) <sup>a</sup>
eCG al retiro del DIB <sup>®</sup>	62,5% (45/72) <sup>b</sup>	46,9% (83/177) <sup>b</sup>
eCG al día 14 luego de la inseminación	55,8% (43/77) <sup>ab</sup>	39,0% (64/164) <sup>ab</sup>
eCG al retiro del DIB <sup>®</sup> y al día 14 luego de la inseminación	82,9% (63/76) <sup>c</sup>	46,8% (79/169) <sup>b</sup>

Diferentes letras en una misma columna representan diferencias significativas ( $P < 0,05$ )

Las tasas de pérdidas embrionarias o fetales tempranas (vacías a los 60 días luego de la inseminación sobre las preñadas a los 30 días) fue de 1,6% (3/182) para las vacas, no detectándose diferencias entre los grupos (Tabla 2).

Tabla 2. Tasa de preñez obtenida luego de la IATF y pérdidas embrionarias / fetales tempranas.

<b>VACAS</b>	US 30 días (n=297)	US 60 días (n=297)	Pérdidas (n=182)
Control – Sin eCG	43,1% (31/72) <sup>a</sup>	43,1% (31/72) <sup>a</sup>	0,0% (0/31) <sup>a</sup>
eCG al retiro del DIB <sup>®</sup>	62,5% (45/72) <sup>b</sup>	62,5% (45/72) <sup>b</sup>	0,0% (0/45) <sup>a</sup>
eCG al día 14 luego de la inseminación	55,8% (43/77) <sup>ab</sup>	51,9% (40/77) <sup>ab</sup>	6,9% (3/43) <sup>a</sup>
eCG al retiro del DIB <sup>®</sup> y al día 14 luego de la inseminación	82,9% (63/76) <sup>c</sup>	82,9% (63/76) <sup>c</sup>	0,0% (0/63) <sup>a</sup>
<b>Total</b>			1,6% (3/182)

Diferentes letras en una misma columna representan diferencias significativas (P<0,05)

Los resultados observados en vaquillonas fueron similares, no detectándose diferencias entre los grupos experimentales. La tasa de pérdidas embrionarias o fetales tempranas fue de 4,8% (14/292), (Tabla 3).

Tabla 3. Tasa de preñez obtenida luego de la IATF y pérdidas embrionarias / fetales tempranas.

<b>VAQUILLONAS</b>	US 30 días (n=689)	US 60 días (n=689)	Pérdidas (n=292)
Control – Sin eCG	36,9% (66/179) <sup>a</sup>	34,1% (61/179) <sup>a</sup>	7,6% (5/66) <sup>a</sup>
eCG al retiro del DIB <sup>®</sup>	46,9% (83/177) <sup>b</sup>	44,1% (78/177) <sup>b</sup>	6,0% (5/83) <sup>a</sup>
eCG al día 14 luego de la inseminación	39,0% (64/164) <sup>ab</sup>	37,8% (62/164) <sup>ab</sup>	3,1% (2/64) <sup>a</sup>
eCG al retiro del DIB <sup>®</sup> y al día 14 luego de la inseminación	46,8% (79/169) <sup>b</sup>	45,6% (77/169) <sup>b</sup>	2,5% (2/79) <sup>a</sup>
<b>Total</b>			4,8% (14/292)

Diferentes letras en una misma columna representan diferencias significativas (P<0,05)

Estos resultados observados tanto en vacas como en vaquillonas concuerdan con lo reportado por Sartori *et al.*, 2004.

El tratamiento con eCG permitió obtener una elevada tasa de preñez tanto en vacas como en vaquillonas observándose diferencias significativas entre los grupos. El beneficio obtenido con el uso de eCG si bien está vinculado a su efecto FSH y LH, aún no está claro que nivel estaría actuando. Resultados anteriores en vacas cebuinas sugieren que su uso podría incrementar el tamaño del folículo ovulatorio y/o el tamaño del cuerpo lúteo y la consecuente secreción de progesterona, favoreciendo el desarrollo embrionario y el inicio

de la gestación (Baruselli *et al.*, 2004). Sin embargo el efecto de la eCG a nivel ovárico no ha sido estudiado en *Bos taurus* y mucho menos en razas británicas bajo las condiciones productivas de nuestra región.

## **CONCLUSIONES**

La administración de 400 UI de eCG al momento del retiro del dispositivo aumenta la tasa de preñez, tanto en vacas como en vaquillonas en anestro. Sumado a esto, la administración de una segunda dosis de 400 UI de eCG 14 días luego de la inseminación sugiere un posible efecto sobre la supervivencia de embriones en los primeros 30 días de gestación en vacas múltiparas, no observándose los mismos resultados en vaquillonas.

Se requieren futuros trabajos adicionales para confirmar estos resultados y principalmente estudios a nivel ovárico y endócrino que permitan comprender el mecanismo involucrado en este fenómeno.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

Ayalon, N. 1978. A review of embryonic mortality in cattle. *J Reprod Fert*; 54:483-493.

Baruselli, P.S.; Reis, E.L.; Marques, M.O.; Nasser, L.F.; Bó, G.A. 2004. The use of treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci*; 82-83:479-486.

Bó, G.A.; Cutaia, L.; Peres, L.C.; Pincinato, D.; Maraña, D.; Baruselli, P.S. 2007. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. *Reproduction in Domestic Ruminants VI*, Juengel JL, Murray JF and Smith MF (editors), Nottingham University Press; 223-236.

- Bridges, P.J.; Wright, D.J.; Buford, W.I.; Ahmad, N.; Hernandez Fonseca, H.; McCormick, M.L.; Schrick, F.N.; Dailey, R.A.; Lewis, P.E.; Inskip, E.K. 2000. Ability of induced corpora lutea to maintain pregnancy in beef cows. *J Anim Sci*; 78:2942-2949.
- Cutaia, L.; Ramos, M.; Chesta, P.; Bó, G.A. 2010. Pregnancy rates in suckled beef cows synchronized with progesterone intravaginal devices and receiving eCG fourteen days after breeding. *Reprod Fertil Dev*; 22:168 (abstract).
- Forar, A.L.; Gay, J.M.; Hancock, D.D.; Gay, C.C. 1996. Fetal loss frequency in ten Holstein dairy herds. *Theriogenology*; 45:1502-1513.
- Garrett, G.E.; Geisert, R.D.; Zavy, M.T.; Morgan, G.L. 1988. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J Reprod Fertil*; 84:437-446.
- Geisert, R.D.; Short, E.C.; Morgan, G.L. 1994. Establishment of pregnancy in domestic species. Geisert, R.D.; Zavy, M.T. (eds.) *Embryonic mortality in domestic species*. Florida: CRC Press; 23-53.
- Humbolt, P. 2002. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. *Theriogenology*; 56:1417-1433.
- Imakawa, K.; Anthony, R.V.; Kazemi, M.; Marotti, K.R.; Polites, H.G.; Roberts, R.M.. 1987. Interferon-like sequence of ovine trophoblast protein secreted by embryonic trophoctoderm. *Nature*; 330:377-379.
- Inskip, E.K. 1995. Factors that affect fertility during oestrous cycles with short or normal luteal phases in postpartum cows. *J Reprod Fertil. Suppl*; 49:493-503.
- Kerbler, T.L.; Buhr, M.M.; Jordan, L.T.; Leslie, K.E.; Walton, J.S. 1997. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology*; 47(3):703-714.
- Mann, G.E.; Lamming, G.E.; Robinson, R.S.; Wathes, D.C. 1999. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *J Reprod Fertil*; 54:317-328.

- Mann, G.E.; Fray, M.D.; Lamming, G.E. 2006. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-t production in the cow. *Vet J*; 171:500-503.
- Martal, J.; Lacroix, M.C.; Loudes, C.; Saunier, M.; Wintenberger-Torrès, S. 1979. Trophoblastin, an antiluteolytic protein present in early pregnancy in sheep. *J. Reprod. Fert.*; 56:63-73.
- Moor, R.M. and Rowson, L.E.A. 1966. The corpus luteum of the sheep: Effect of the removal of embryos on luteal function. *J. Endocrinol.*; 34: 497-502.
- Murphy, B.D. and Martinuk, S.D. 1991. Equine chorionic gonadotropin. *Endocr Rev*; 12:27-44.
- Okuda, K.; Miyamoto, Y.; Skarzynski, D.J. 2002. Regulation of endometrial prostaglandin F (2alpha) synthesis during luteolysis and early pregnancy in cattle. *Domest Anim Endocrinol*; 23:255-264.
- Perry, G.A.; Smith, M.F.; Lucy, M.C.; Green, J.A.; Parks, T.E.; Mac Neil, M.D.; Roberts, A.J.; Geary, T.W. 2005. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proceedings of the National Academy of Science USA*; 102:5268-5273.
- Pritchard, J.Y.; Schrick, F.N.; Inskip, E.K. 1994. Relationship of pregnancy rate to peripheral concentration of progesterone and estradiol in beef cows. *Theriogenology*; 42:247-259.
- Sartori, R.; Haughian, J.M.; Shaver, R.D.; Rosa, G.J.M.; Wiltbank, M.C. 2004. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of holstein heifers and lactating cows. *J. Dairy Sci*; 87:905-920.
- Santos, J.E.; Thatcher, W.W.; Chebel, R.C.; Cerri, R.L.; Galvao, K.N. 2004. The effect of embryonic death rates in cattle and the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim Reprod Sci*; 82-83:513-535.

- Silke, V.; Diskin, M.G.; Kenny, D.A.; Boland, M.P.; Dillon, P.; Mee, J.F.; Sreenan, J.M. 2002. Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Anim Reprod Sci*; 71:1-12.
- Spencer, T.E.; Burghardt, R.C.; Johnson, G.A. 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Anim Reprod Sci*; 82-83:537-550.
- Sreenan, J.M.; Diskin, M.G.; Morris, D.G. 2001. Embryo survival rate in cattle: a major limitation to the achievement of high fertility. *Fertility in the high producing dairy cow*. 26 *Occ Publ Br Soc Anim Sci*; 93-104.
- Thatcher, W.W.; Staples, C.R.; Danet-Desnoyers, G.; Oldick, B.; Schmitt, E.P. 1994. Embryo health and mortality in sheep and cattle. *J Anim Sci*; 72(3):16-30.
- Thatcher, W.W.; De La Sota, R.L.; Schmitt, E.J.; Díaz, T.C.; Badinga, L.; Simmen, F.A.; Staples, C.R.; Drost, M. 1996. Control and management of ovarian follicles in cattle to optimize fertility. *Reprod Fertil Dev*; 8(2):203-217 (abstract).
- Thatcher, W.W.; Binelli, M.; Burke, J. 1997. Antiluteolytic signals between the conceptus and endometrium. *Theriogenology*; 47(1):131-140.
- Thatcher, W.W.; Binelli, M.; Arnold, D.; Mattos, R.; Badinga, L.; Moreira, F.; Staples, C.R.; Guzeloglu, A. 2001. Endocrine and physiological events from ovulation to establishment of pregnancy in cattle. *Fertility in the high producing dairy cow*. 26 *Occ Publ Br Soc Anim Sci*; 81-91.
- Thomas, E.S. and Fuller, W.B. 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol*; 2:49.
- Vanroose, G.; de Kruif, A.; Van Soom, A. 2000. Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. *Anim Reprod Sci*; 60:131-143.
- Wathes, D.C. 1992. Embryonic mortality and the uterine environment. *J Endocrinol*; 134:321-325.