



UNIVERSIDAD
NACIONAL DE
VILLA MARIA

Biblioteca Central "Vicerrector Ricardo A. Podestá"
Repositorio Institucional

Uso de semen sexado en programas de inseminación artificial a tiempo fijo en vacas y vaquillonas de carne

Año
2018

Autor
Bó, Gabriel A.

Este documento está disponible para su consulta y descarga en el portal on line de la Biblioteca Central "Vicerrector Ricardo Alberto Podestá", en el Repositorio Institucional de la **Universidad Nacional de Villa María**.

CITA SUGERIDA

Bó, G.A., [et al.] (2018). *Uso de semen sexado en programas de inseminación artificial a tiempo fijo en vacas y vaquillonas de carne: Informe de los experimentos realizados en la temporada 2017/2018.*



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional

Uso de Semen Sexado en Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en vacas y vaquillonas de carne

Informe de los experimentos realizados en la temporada 2017/2018

G.A. Bó^{1,2}, E. Huguenine³, J.J. de la Mata⁴, R.L.R. de Carnerio⁵,
S. Perez Wallace⁷ y A. Menchaca⁶

¹ Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), Zona Rural, General Paz (5145), Córdoba, Argentina

² Instituto A.P. de Ciencias Básicas y Aplicadas, Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Villa María, Villa del Rosario, Córdoba, Argentina

³ Actividad Privada, SAV, San Luis, Argentina

⁴ Actividad Privada y Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de La Pampa, Argentina

⁵ Sexing Technologies Inc., Argentina

⁶ Fundación IRAU y, Instituto de Reproducción Animal Uruguay, Montevideo, Uruguay

⁷ Zoetis, Buenos Aires, Argentina

e-mail: gabrielbo62@gmail.com

Introducción

En los últimos 20 años se han realizado progresos significativos en la mejor comprensión de los patrones del crecimiento de los folículos ováricos bovinos y como se puede sincronizar su crecimiento y ovulación (Bó et al., 2013). En la actualidad existe una amplia gama de tratamientos de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) disponibles para ser utilizados tanto en rodeos de carne como de leche (Bó et al., 2013). Básicamente los programas de IATF utilizados en la actualidad se agrupan según el tipo de hormona utilizada. Los protocolos denominados “OvSynch” (Pursley et al., 1995) y “Co-Synch” (Geary et al., 2001) utilizan análogos de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) y prostaglandinas (PGF) para la sincronización de la ovulación. También los tratamientos “Co-Synch” han sido utilizados junto a la inserción de un dispositivo con progesterona (Lamb et al., 2001; Martínez et al., 2002) resultando en mejores tasas de preñez en vacas y vaquillonas para carne. Por otro lado, están los protocolos que emplean benzoato de estradiol (EB; Bó et al., 2002) y dispositivos con P4, que son los más utilizados en Argentina (Bó et al., 2013). En los últimos años, este último tratamiento se vio simplificado debido a la aplicación de cipionato de estradiol (ECP) como inductor de ovulación (Colazo et al., 2003), logrando alcanzar aceptables tasas de preñez en vacas de carne (Bó et al., 2013; Uslenghi et al., 2014). Sin embargo, se han reportado recientemente que las tasas de preñez se podrían incrementar si se disminuye el período de crecimiento del folículo dominante ovulatorio y se prolonga la duración del proestro (Bridges et al., 2008, 2012, Colazo y Ambrose, 2011, Bó et al., 2016).

Recientemente se ha desarrollado un nuevo tratamiento utilizando un protocolo basado en EB y un dispositivo con progesterona (que son las hormonas más usadas en

Argentina) pero donde la remoción del dispositivo fue realizada 6 días después (en lugar de 8) y se prolongó el proestro administrando GnRH como inductor de la ovulación a las 72 h de retirar el dispositivo en lugar de ECP al retiro. Este protocolo fue denominado J-Synch (de la Mata y Bó, 2012). En trabajos posteriores se encontró que las tasas de preñez a la IATF tendieron a ser mayores con el protocolo J-Synch que con el protocolo convencional utilizado en Argentina en vaquillonas Holstein (Ré et al., 2014; 2015) y significativamente mayores en vaquillonas de carne y receptoras de embriones (Bó et al., 2016, Menchaca et al., 2016). Este protocolo promueve modificaciones durante el proestro y define un perfil endocrino preovulatorio que está positivamente asociado con un CL más competente y una mejora del medioambiente uterino (Binelli et al., 2017). La mayor preñez obtenida con el protocolo J-Synch en vaquillonas sugiere que podría ser una alternativa interesante para aplicar en programas de IATF con semen sexado.

Uso de Semen Sexado en Programas de Inseminación Artificial

Durante años, los investigadores vienen buscando manipular el sexo antes de la concepción (Garner y Seidel, 2008). Esta determinación del sexo en rodeos de carne y leche puede ser uno de los factores determinantes para mejorar el desempeño productivo y económico de la actividad. Por ejemplo, en los tambos, el ternero macho tiene poco o ningún valor zootécnico. Sin embargo, en los establecimientos de carne el ternero macho es el sexo de interés debido a un mayor potencial de producción. Teniendo en cuenta esas particularidades, se han realizado muchas investigaciones con el objetivo de predecir y/o manipular la proporción del sexo de los terneros. La separación de los espermatozoides Y de los espermatozoides X es posible debido a las diferencias en el contenido del ADN de esas células espermáticas (espermatozoide X posee cerca del 4% más ADN que el espermatozoide Y), siendo realizada por citometría de flujo. Esta biotécnica asocia la emisión de rayos láser, la coloración diferencial (usando el fluorocromo Hoechst 33342) de los espermatozoides y las fuerzas hidrodinámicas que dirigen el espermatozoide en el momento de la lectura durante el proceso de separación de los espermatozoides con cromosomas X e Y (Beltsville Sperm Sexing Technology).

Si bien la utilización de semen sexado mantuvo gran interés en los últimos 20 años para inseminar vaquillonas de leche, el uso masivo del semen sexado se vio de alguna manera limitado, debido a que la fertilidad estaba comprometida y no se podía solucionar aumentando el número de espermatozoides por dosis inseminante (DeJarnette et al., 2011). Los factores que afectan las tasas de concepción con semen sexado a la inseminación artificial (IA) dependen del toro (fertilidad intrínseca), procesamiento del semen, cantidad de espermatozoides, momento de la IA y del historial reproductivo de la vaca. Estos factores se ven afectados a su vez por potenciales “estresores” durante el proceso de separación espermática como la adición del fluorocromo Hoechst 33342, exposición a luz ultravioleta, incubación a altas temperaturas, cambios de presión, campos electrostáticos, estrés oxidativo, además del proceso de congelación de semen (de Graaf et al., 2014). Sin embargo, se ha desarrollado recientemente un nuevo procedimiento simplificado y menos traumático

para los espermatozoides sexados denominado SexedULTRA[®], donde inclusive se ha planteado la opción de aumentar el número de espermatozoides por pajuela de 2.1 millones como se utilizaba con el semen XY a 4 millones de espermatozoides con el SexedULTRA 4M[®] (Vishwanath, 2015). Esta nueva tecnología consta de nuevos métodos para la manipulación y procesado antes de la separación espermática, fundamentalmente cambios en la composición de los medios utilizados en los estadios del proceso de separación, promoviendo un ambiente más inocuo que evita cambios de pH y temperatura, respetando la integridad de los espermatozoides (de Graaf et al., 2014). Es indudable que, para la utilización efectiva de esta tecnología, tanto en rodeos lecheros como de carne se deberían desarrollar protocolos de IATF para semen sexado (Kasimanickam, 2015). En un experimento preliminar realizado por nuestro grupo (Ré et al., no publicado) se utilizaron 200 vaquillonas que fueron tratadas con el protocolo J-Synch con un dispositivo de 0,5 g de progesterona (SynkroXY, Proagro, Argentina) e inseminadas a las 72 h de la remoción del dispositivo. En este caso las vaquillonas fueron pintadas en la base de la cola y las despintadas fueron IATF a las 72 h, mientras que las pintadas fueron IA 12 h después que se despintaran en los próximos dos días. De las 100 vaquillonas con semen convencional se inseminaron todas a las 72 h y se preñó el 56%. De las IA con semen sexado 72 vaquillonas fueron IA a las 72 h y se preñaron el 51%, 16 vaquillonas fueron IA a las 96 h y se preñaron el 69% y otras 8 vaquillonas fueron IA a las 120 h y se preñaron el 38%, 5 quedaron sin inseminar. Las preñez general no fue diferente entre los grupos (56% para el semen convencional vs 53% para las con semen sexado; $P>0,2$).

Objetivo General

El objetivo general de este resumen es presentar resultados de experimentos realizados recientemente utilizando el protocolo J-Synch en vacas y vaquillonas de carne inseminadas con semen sexado. El objetivo secundario fue evaluar la tasa de preñez de distintos toros utilizando semen convencional y SexedULTRA 4M[®] de 4 millones de espermatozoides en programas de IATF.

Experimento 1

El Experimento 1 fue realizado en el verano del 2017. Se utilizaron 357 vaquillonas Angus que fueron tratadas con el protocolo J-Synch. En el Día 0 recibieron un dispositivo intravaginal (DIB 0,5, Zoetis, Argentina) y 2 mg de EB (Gonadiol, Zoetis) por vía i.m., 500 µg de cloprostenol (Ciclase, Zoetis) en el día de la remoción del dispositivo (Día 6) y se pintó en la base de la cola con pintura como método visual en la detección de celo. Las vaquillonas que manifestaron celo a las 72 h post remoción del dispositivo (pintura alterada), fueron divididas en dos subgrupos al azar para ser IATF con semen sexado hembra (SexedULTRA 4M[®] de 4 millones de espermatozoides) o con semen convencional no sexado (Convencional). Las vaquillonas que no manifestaron celo a las 72 h (pintura sin alterar) recibieron 100 µg de acetato de gonadorelina (GnRH, Gonasyn gdr, Zoetis) en ese momento y fueron IATF a las 84 h post remoción del dispositivo con semen sexado o con semen convencional. El semen

sexado y convencional provenía de un mismo toro y del mismo eyaculado y fue provisto por la Empresa Sexing Technologies de Argentina. Los diagnósticos de gestación se llevaron a cabo 30 días post IATF mediante ultrasonografía (Honda HS 101 v, Japón). Los resultados se encuentran indicados en la Tabla 1. Hubo un 57,7% (206/357) de vaquillonas en celo a las 72 h y una tasa de preñez general del 53,8%. Las tasas de preñez fueron mayores ($P<0,01$) para semen convencional que para semen sexado. A su vez las vaquillonas que mostraron celo tuvieron una mayor ($P<0,01$) tasa de preñez que las que no mostraron celo.

Tabla 1. Tasas de preñez en vaquillonas Angus inseminadas con semen sexado SexedULTRA 4M[®] de 4 millones de espermatozoides o convencional de acuerdo a la expresión o no de celo (lectura de pintura) a las 72 h de la remoción del dispositivo con progesterona.

		Celo 72 h	Sin Celo a las 72 h	
	n	IATF 72 h	IATF 84 h	Total
SexedULTRA 4M[®]		58/106	24/74	82/180
(4 millones)	180	(54,7%) ^{a*}	(32,4%) ^{a**}	(45,5%) ^a
Convencional		70/100	40/76	110/176
(25 millones)	177	(70,0%) ^{b*}	(52,6%) ^{b**}	(62,5%) ^b

^{ab} los porcentajes entre semen sexado y convencional difieren ($P<0,01$)

^{**} los porcentajes entre horarios de IATF difieren ($P<0,01$)

Experimento 2

El experimento 2 fue realizado en el verano y la posterior primavera del 2017. El experimento fue realizado en 6 establecimientos ganaderos las Provincias de San Luis, Córdoba y La Pampa. Se utilizaron 850 vaquillonas Angus y Angus cruza Simmental que fueron tratadas con el protocolo J-Synch como en el Experimento 1, excepto que todas las vaquillonas recibieron 300 IU de eCG (Novormon 5000, Zoetis) en el momento de la remoción del dispositivo. En este experimento se detectó celo con pintura como en el experimento anterior pero en este caso la lectura de la pintura se realizó a las 60 y 72 h de la remoción del dispositivo. Las vaquillonas con la pintura alterada fueron divididas en dos subgrupos para ser IATF con semen sexado (SexedULTRA 4M[®] de 4 millones de espermatozoides) o con semen convencional. Las vaquillonas que no manifestaron celo a las 72 h (pintura sin alterar) recibieron GnRH en ese momento y fueron IATF a las 84 h post remoción del dispositivo con semen sexado o con semen convencional. El semen sexado y convencional provino de 4 toros Angus y fue provisto por la Empresa Sexing Technologies de Argentina. Los diagnósticos de gestación se llevaron a cabo 30 días post IATF mediante ultrasonografía.

En el Experimento 2 hubo un mayor ($P<0,01$) porcentaje de vaquillonas en celo a las 60 y 72 h (72,7%) que en el Experimento 1 y una tasa de preñez general del 54%.

En este caso hubo efectos significativos de establecimiento ($P<0,01$), toros ($P<0,02$) y tipo de semen ($P<0,01$) en las tasas de preñez. También hubo un efecto significativo del horario del celo ($P<0,01$) pero no hubo interacción entre tipo de semen y horario del celo ($P>0,5$). Los resultados están indicados en las Tablas 2, 3 y 4.

Tabla 2. Tasas de preñez en vaquillonas Angus inseminadas con semen sexado o convencional de acuerdo a la expresión o no de celo (lectura de pintura) a las 60 o 72 h de la remoción del dispositivo con progesterona.

	N	Celo 60 h IATF 72 h	Celo 72 h IATF 72 h	Sin celo a las 60 o 72 h IATF 84 h	Total
SexedULTRA 4M[®]	426	104/176	61/134	45/116	210/426
(4 millones)		(59,0%) ^c	(45,5%) ^d	(38,8%) ^e	(49,3%) ^a
Convencional	424	119/172	79/136	49/116	247/424
(25 millones)		(69,2%) ^{cd}	(58,0%) ^e	(42,2%) ^e	(58,3%) ^b
Total	850	223/348	140/270	94/232	
		(64,0%) ^f	(51,9%) ^g	(40,5%) ^g	

^{ab} los porcentajes difieren entre semen sexado y convencional ($P<0,01$).

^{cde} los porcentajes difieren entre horarios de celo y entre semen sexado y convencional ($P<0,05$).

^{fg} los porcentajes difieren entre los horarios de celo ($P<0,01$).

Tabla 3. Tasas de preñez en vaquillonas Angus inseminadas con semen sexado o convencional. Efecto del toro sobre las tasas de preñez.

	n	Toro 1	Toro 2	Toro 3	Toro 4
SexedULTRA 4M[®]	426	65/123	50/97	73/123	22/83
(4 millones)		(52.8%)	(51.5%)	(59.3%)	(26.5%)
Convencional	424	75/123	56/96	82/121	34/84
(25 millones)		(61.0%)	(58.3%)	(67.8%)	(40.5%)
TOTAL	850	140/246	106/193	155/244	56/167
		(56.9%) ^b	(54.9%) ^b	(63.5%) ^b	(33.5%) ^a

^{ab} Los porcentajes totales de preñez difieren entre toros ($P<0,02$).

Tabla 4. Tasas de preñez en vaquillonas Angus inseminadas con semen sexado o convencional. Efecto Establecimiento sobre las tasas de preñez.

	n	SexedULTRA 4M[®] (4 millones)	Convencional (25 millones)	Total
Establecimiento 1	244	73/123 (59,3%)	82/121 (67,8%)	155/244 ^a (63,5%)
Establecimiento 2	128	18/63 (28,5%)	22/65 (33,8%)	40/128 (31,2%) ^c
Establecimiento 3	97	26/50 (52,0%)	22/47 (46,8%)	48/97 (49,5%) ^b
Establecimiento 4	96	29/47 (61,7%)	34/49 (69,4%)	63/96 (65,6%) ^a
Establecimiento 5	181	46/91 (50,5%)	61/90 (67,7%)	107/181 (59,1%) ^a
Establecimiento 6	104	18/52 (34,6%)	26/52 (50,0%)	44/104 (42,3%) ^b

^{abc} Los porcentajes totales de preñez difieren entre establecimientos (P<0,02).

Experimento 3. Uso de semen SexedULTRA 4M[®] en vacas de carne con cría al pie

En este experimento se utilizaron un total de 877 Vacas con cría al pie en cuatro establecimientos ganaderos de San Luis y La Pampa. Las vacas tenían 45 a 90 días posparto, una condición corporal de entre 3 a 3,5 y con un CL o Folículos >8 mm de diámetro y fueron tratadas con el protocolo J-Synch con 400 IU eCG. En este experimento se detectó celo con pintura como en el Experimento 2 y las vacas fueron divididas en dos subgrupos para ser IATF con semen SexedULTRA 4M[®] o convencional de 5 toros (3 de los cuales ya habían sido utilizado en los experimentos de vaquillonas). Los diagnósticos de gestación se llevaron a cabo 30 días post IATF mediante ultrasonografía. En este experimento el porcentaje de vacas en celo a las 60 y 72 h fue del 71,3% y la tasa general de preñez fue del 57%. En este caso hubo una diferencia de tipo de semen, momento de celo (P<0,01) y el toro utilizado (P<0,05). No hubo interacciones y tampoco hubo diferencias entre los cuatro establecimientos donde se realizó el experimento (Rango 52 a 59%). Los resultados de preñez para los distintos horarios de celo e IATF están indicados en la Tabla 5 y para cada toro utilizado en la Tabla 6.

Tabla 5. Tasas de preñez en Angus con cría al pie inseminadas con semen sexado o convencional de acuerdo a la expresión o no de celo (lectura de pintura) a las 60 o 72 h de la remoción del dispositivo con progesterona.

	N	Celo 60h	Celo 72h	Celo 84h	No Celo	Total
		IATF 72h	IATF 72h	IATF 84h	IATF 84h	
SexedULTRA 4M®	4	93/228	34/79	20/29	50/104	197/435
(4 millones)	3					
	5	(40,8%) ^d	(43,0%) ^d	(70,6%) ^c	(48,1%) ^d	(45,3%) ^a
Convencional	4	154/234	57/84	20/24	69/95	303/442
(25 millones)	4					
	2	(65,8%) ^c	(67,9%) ^c	(83,3%) ^c	(72,6%) ^c	(68,6%) ^b
Total	8	247/462	91/163	40/53	119/199	
	7					
	7	(53,5%) ^f	(55,8%) ^f	(75,5%) ^g	(59,8%) ^f	

^{ab} los porcentajes difieren entre semen sexado y convencional (P<0,01).

^{cd} los porcentajes difieren entre horarios de celo y entre semen sexado y convencional (P<0,05).

^{fg} los porcentajes difieren entre los horarios de celo (P<0,01).

Tabla 6. Tasas de preñez en vacas Angus con cría al pie inseminadas con semen sexado o convencional. Efecto del toro sobre las tasas de preñez.

	n	Toro 1	Toro 2	Toro 3	Toro 4	Toro 5
SexedULTRA 4M®	435	26/47	66/153	95/197	3/7	8/31
(4 millones)		(55,3%)	(43,1%)	(48,2%)	(43%)	(25,8%)
Convencional	442	27/42	113/153	142/208	5/7	17/32
(25 millones)		(64,3%)	(73,9%)	(68,3%)	(71,4%)	(53,1%)
TOTAL	877	53/89	179/306	237/405	8/14	25/63
		(59,6%) ^a	(62,3%) ^a	(58,5%) ^a	(57,1%) ^a	(39,6%) ^b

^{ab} Los porcentajes totales de preñez tienden a diferir entre toros (P<0,08).

Discusión y conclusiones

Los resultados de los tres experimentos demuestran que se pueden adaptar protocolos de IATF con la ayuda de pintura para la detección de celo para la utilización de semen SexedULTRA® en vacas y vaquillonas de carne. Cabe destacar que en

ninguno de estos experimentos se realizó detección visual del comportamiento del celo, solo se utilizó una lectura de pintura a todos los animales al pasar por la manga. Esto se propone como parte del protocolo de IATF, aplicándose de manera sistemática sin requerir la observación individual del comportamiento de celo. Las tasas de preñez generales fueron mayores para semen convencional que para semen sexado. Sin embargo, en el Experimento 2 la tasa de preñez con semen sexado fue del 49% y la relación con el convencional fue del 85%, lo que se puede considerar aceptable para un protocolo de IATF. Sobre todo si se considera que en este experimento uno de los toros tuvo una fertilidad del 26%. Sin embargo, la tasa de preñez con semen sexado en los otros tres toros oscilaron entre el 51% y el 59%. Estos datos concuerdan con un estudio reciente (Thomas et al., 2017) en el cual vaquillonas para carne que se IATF con semen convencional lograron tasas de preñez mayores que las que se IATF con semen SexedULTRA® cuando fueron sincronizadas con un protocolo de CIDR-B (Zoetis, USA) por 14 días más PGF 16 días después (60% para convencional y 52% para sexado, respectivamente $P < 0,05$). En ese caso la relación de fertilidad con semen sexado y convencional estuvo en el 87%.

El efecto del horario de celo e IATF fue menos claro en las vacas con cría al pie, donde no se encontró una mayor tasa de preñez en los animales que entraron en celo a las 60 h y fueron inseminados a las 72 h. En realidad, las vacas inseminadas más tarde se preñaron más que las inseminadas a las 60 o 72 h. Esto puede ser debido a diferentes horarios de ovulación en vacas que en vaquillonas cuando se aplica el protocolo J-Synch y a diferencias en la expresión de celos, que siempre es más manifiesto en vaquillonas que en vacas con cría al pie. Analizando los horarios de celo e IATF, queda pendiente descifrar cuando es mejor inseminar los animales que están despintados a las 72 h. Por las diferencias de tasa de preñez entre semen convencional y sexado en este grupo de animales, parecería que sería mejor inseminar a estos animales con semen sexado a las 84 h, pero esta hipótesis debe ser confirmada experimentalmente. Algunos resultados preliminares sobre esto van a estar disponibles en poco tiempo, pero debemos aumentar el número de animales para tener resultados más firmes. También es necesario hacer más trabajos en vacas con cría al pie para tener datos concluyentes. En conclusión, los resultados de los experimentos realizados hasta ahora demuestran que utilizando el protocolo J-Synch con la ayuda de pintura para adecuar el horario de IATF, es posible conseguir tasas de preñez aceptables utilizando semen SexedULTRA 4M® en vaquillonas y vacas de carne con cría al pie.

Bibliografía

Binelli M., Pugliese G., de Oliveira Santana Batista E., Martins T., Lopes E., Sponchiado M., Gonella-Diaza A., Oliveira M., Rodriguez França M., de Oliveira Cardoso B., Piffero Mello B., Souza Gomes N., Latorraca L., Cuellar Cuadros F. 2017. Programação da receptividade uterina e fertilidade em vacas de corte. Rev. Bras. Reprod. Anim. 41:121-129.

- Bó G.A., Cutaia L. y Tríbulo R. 2002. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Segunda parte. *Taurus* 15: 17-32.
- Bó G.A., Baruselli P.S. and Mapletoft R.J. 2013. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. *Anim. Reprod.* 10: 137-142.
- Bó G.A., de la Mata J.J., Baruselli P.S., Menchaca A. 2016. Alternative programs for synchronizing and re-synchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology* 86:388-396.
- Bridges G.A., Hesler L.A., Grum D.E., Mussard M.L., Gasser C.L. and Day M.L., 2008. Decreasing the interval between GnRH and PGF2 α from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology* 69: 843-51.
- Bridges G.A., Mussard M.L., Pate J.L., Ott T.L., Hansen T.R. and Day M.L. 2012. Impact of preovulatory estradiol concentrations on conceptus development and uterine gene expression. *Anim. Reprod. Sci.* 133: 16-26
- Colazo M.G., Kastelic J.P. and Mapletoft R.J. 2003. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. *Theriogenology* 60: 855-865.
- Colazo M.G. and Ambrose D.J. 2011. Neither duration of progesterone insert nor initial GnRH treatment affected pregnancy per timed-insemination in dairy heifers subjected to a Co-synch protocol. *Theriogenology* 76: 578-588.
- de Graaf S.P., Leahy T. and Vishwanath R. 2014. Biological and practical lessons associated with the use of sexed semen. *Rumin. Reprod. Symp. Proceedings*, 9th International Symposium on Reproduction in Domestic Ruminants. Pp 125-140.
- DeJarnette J.M., Leach M.A., Nebel R.L., Marshall C.E., McCleary C.R., and Moreno J.F. 2011. Effects of sex-sorting and sperm dosage on conception rates of Holstein heifers: Is comparable fertility of sex-sorted and conventional semen plausible?. *Journal of Dairy Science* 94: 3477-3483.
- de la Mata J.J. and G.A. Bó. 2012. Sincronización de celos y ovulación utilizando protocolos de benzoato de estradiol y GnRH en períodos reducidos de inserción de un dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne. *Taurus* 55:17-23.
- Garner D.L., Seidel Jr G.E. 2008. History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology* 69:886–895.
- Geary T.W. and Whittier J.C. 2001. Effects of timed insemination following synchronization of ovulation using the Ovsynch or CO-Synch protocol in beef cows. *The Professional Animal Scientist* 14: 217-220.

- Kasimanickam R. 2015. Utilization of sexed-sorted semen. Bovine Reproduction. Chapter 72. Bovine Reproduction, R.M.Hopper, Wiley Blackwell. Pp 673.
- Lamb GC1, Stevenson JS, Kesler DJ, Garverick HA, Brown DR, Salfen BE.2001. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F2alpha for ovulation control in postpartum suckled beef cows. J Anim Sci. 79:2253-9
- Martínez M.F., Kastelic J.P., Adams G.P. and Mapletoft R.J. 2002. The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengCelol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. J. Anim. Sci. 80: 1746-1751.
- Menchaca A., Dutra S., Carrau J.M., Sapriza F., Bo G.A. 2016. Improvements of the new J-Synch protocol used for fixed time embryo transfer (FTET) in beef cattle recipients transferred with in vitro produced embryos. International Congress of Animal Reproduction (ICAR), Tours, Francia, P471.
- Pursley R.J., Mee M.O. and Wiltbank M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. Theriogenology 44(7):915-23.
- Ré M., de la Mata J.J. and Bó G.A. 2014. Synchronization of ovulation in dairy heifers using a shortened estradiol-based protocol that provides for a lengthened proestrus. Reprod. Fertil. Dev. 26:118 (abstract).
- Ré M.G., Curchod G., Alessio D., Caccia M., de la Mata J.J., Bó G.A. 2015. Tratamientos que prolongan el proCelo usando estradiol y progesterona en vaquillonas de leche. Resúmenes XI Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina, pp. 159-167.
- Thomas J.M., Locke J.W.C., Vishwanath R., Hall J.B., Ellersieck M.R., Smith M.F., Patterson D.J. 2017. Effective use of SexedULTRA® sexed-sorted semen for timed artificial insemination of beef heifers. Theriogenology 98: 88-93.
- Uslenghi G., González Chavez S., Cabodevila J. and Callejas S. 2014. Effect of estradiol cypionate and amount of progesterone in the intravaginal device on synchronization of estrus, ovulation and on pregnancy rate in beef cows treated with FTAI based protocols. Anim. Reprod. Sci. 145: 1-7.
- Vishwanath R. 2015 Sexed sperm vs conventional sperm – a comparative discussion. Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle, pp.250-256.