

Reutilización de un dispositivo liberador de progesterona (CIDR-B) para sincronizar el estro en un programa de transferencia de embriones bovinos

Reuse of a progesterone releasing device (CIDR-B) for estrus synchronization within an embryo transfer program in bovines

César Wilfredo Solórzano Hernández^a, José Hernán Mendoza^b, Carlos Galina Hidalgo^a,
Alejandro Villa Godoy^a, Héctor R. Vera Avila^c, Salvador Romo García^d

RESUMEN

Se evaluó un dispositivo liberador de progesterona (CIDR-B® 1.9 g) reutilizado en un programa de transferencia de embriones (TE), sobre el porcentaje de estros (PTE) porcentaje de receptoras con cuerpo lúteo al momento de la TE (CLt), porcentaje de gestación a la TE (PGT), porcentaje de gestación a la IA en receptoras que repitieron estro posterior a la TE (PGI), porcentaje de gestación obtenido con embriones de calidad 1 (EC₁) y calidad 2 (EC₂) y concentración sérica de progesterona (CSP). El tratamiento testigo (CIDR nuevo = CIDR_n), tratamiento 1 (CIDR primera reutilización = CIDR₁) y tratamiento 2 (CIDR segunda reutilización = CIDR₂) fueron aplicados en tres períodos sucesivos. No hubo diferencias entre tratamientos en los porcentajes de vacas en estro por día post-retiro de dispositivo ($P > 0.05$): 90.9, 88.4 y 88.1 % para los grupos CIDR_n, CIDR₁ y CIDR₂. El CLt fue de 95.0, 92.1 y 97.3% para los grupos CIDR_n, CIDR₁ y CIDR₂ ($P > 0.05$). El PGT con CIDR_n, CIDR₁ y CIDR₂ fue de 42.1, 37.1 y 36.1, respectivamente ($P > 0.05$). El PGI con CIDR_n (76.5 %), CIDR₁ (81.0 %) y CIDR₂ (76.5 %) no fue diferente ($P > 0.05$). El PG a la TE no fue influenciado por la calidad del embrión transferido (EG₁ vs EG₂, $P > 0.05$). La CSP posterior a la inserción de CIDRs no fue diferente entre tratamientos (Tratamiento y Tratamiento x Día, $P > 0.05$). Los resultados indican la posibilidad de reutilizar los dispositivos nuevos hasta por dos ocasiones sucesivas.

PALABRAS CLAVE: Progesterona, CIDR, Sincronización estral, Bovinos, Transferencia de Embriones.

ABSTRACT

Reuse of a progesterone releasing device (CIDR-B® 1.9 g) within an embryo transfer program in black Brangus cattle was assessed. Comparisons were performed on percentage of estrus per day after CIDR removal (PTE), percentage of total estrus during synchronization period (PTE), percentage of recipient cows with corpora lutea on the day of embryo transfer (CLt), pregnancy rate to embryo transfer (PGE) or to artificial insemination (PGI), pregnancy rate with grade 1 or 2 embryos (EG₁, EG₂), and serum progesterone concentrations during CIDR treatment (CSP). Control treatment for synchronization (new CIDR = CIDR_n), as well as treatment 1 (CIDR first reutilization = CIDR₁) and treatment 2 (CIDR second reutilization = CIDR₂) were performed in 3 successive periods. No differences ($P > 0.05$) were found when evaluating estrus per day after CIDR removal. PTEs were 90.9, 88.4 and 88.1 % for CIDR_n, CIDR₁ and CIDR₂, respectively ($P > 0.05$). CLTs were 95.0, 92.1 and 97.3 % for CIDR_n, CIDR₁ and CIDR₂, respectively ($P > 0.05$). PGT in CIDR_n, CIDR₁ and CIDR₂ were 42.1, 37.1 and 36.1 %, respectively ($P > 0.05$). PGI did not differ between treatments (76.5, 61.0 and 76.5 % for CIDR_n, CIDR₁ and CIDR₂, respectively). Pregnancy rate to embryo transfer was not affected by embryo quality (EG₁ vs EG₂, $P > 0.05$). CSP while CIDRs were inserted did not differ between treatments (Treatment and Treatment x Day, $P > 0.05$). Results indicate the possibility of reusing a new CIDR up to two times in succession as an alternative for estrus synchronization of recipient dams in embryo transfer programs in bovines.

KEY WORDS: Progesterone, CIDR, Synchronization, Cattle, Bovines, Embryo Transfer.

Recibido el 10 de febrero de 2006. Aceptado para su publicación el 24 de mayo de 2007.

^a Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

^b Práctica Privada, Soto la Marina, Tamaulipas, México.

^c Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología Animal, INIFAP.

^d Laboratorio de Reproducción. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Campo 4. Km 2.5 Carretera Cuautitlán -Teoloyucan. San Sebastián Xhala, 54714. Cuautitlán, Estado de México. romo@servidor.unam.mx. Correspondencia al sexto autor.

INTRODUCCIÓN

En la sincronización estral de los bovinos, se han utilizado diversos tratamientos a base de progesterona o progestágenos, en distintas presentaciones y métodos de aplicación, combinados generalmente con otras hormonas. En diferentes condiciones de manejo, genotipos y climas, el uso de progesterona o progestágenos como agentes sincronizadores del estro ha demostrado ser una herramienta satisfactoria^(1,2,3). Un producto comercial empleado en programas de sincronización del estro es el dispositivo intravaginal de liberación controlada de droga (CIDR-B[®], por sus siglas en inglés). El CIDR contiene 1.9 g de progesterona natural, la cual se libera de manera constante y relativamente uniforme mientras el dispositivo se encuentra insertado en la vagina^(4,5,6).

Los protocolos de sincronización donde se administra un CIDR comprenden periodos de inserción que pueden durar de 7 a 10 días^(7,8). La aplicación de compuestos hormonales como: estradiol-17_b (E-17_b)⁽⁹⁾, benzoato de estradiol (BE)⁽¹⁰⁾, y cipionato de estradiol (ECP)^(11,12) al iniciar el protocolo de sincronización, pueden provocar la lisis de cuerpos luteos (CL) en formación, además de que inducen la terminación de la oleada de crecimiento folicular que se encuentre en curso, logrando así la emergencia de una nueva oleada de crecimiento folicular 3 ó 4 días después^(9,13). Así mismo, la administración de prostaglandinas F2a al finalizar el protocolo asegura la lisis del CL que pudiera estar aún presente⁽¹⁾. Se ha demostrado que la sincronización del estro a base de progestágenos con protocolos de corta duración, aumenta la eficiencia en la sincronía y la proporción de animales en estro durante el periodo de sincronización, lográndose hasta 90 % de animales en estro en las primeras 48 h posteriores al término del tratamiento⁽⁸⁾. Lo anterior resulta de particular importancia en la sincronización de receptoras dentro de los programas de transferencia de embriones en bovinos, en los cuales se requiere de un mayor control en cuanto al grado de sincronización de los estros, además de asegurar una función lútea posterior al estro sincronizado, adecuada para la sobrevivencia del embrión transferido⁽¹⁴⁾.

INTRODUCTION

Several treatments based on progesterone and progestogens have been used for estrus synchronization in bovines, using diverse methods and presentations, usually combined with other hormones. In diverse management circumstances, genotypes and climates, progesterone and progestogens have performed as adequate estrus synchronization tools^(1,2,3). A commercially available intravaginal drug releasing device commonly used in estrus synchronization programs is CIDR-B[®]. This product contains 1.9 g of natural progesterone and continually releases fairly uniform amounts of drug when in the vagina^(4,5,6).

Synchronization protocols in which CIDRs are used include 7-10 d insertion periods^(7,8). Use of hormone compounds as estradiol-17_b (E-17_b)⁽⁹⁾, estradiol benzoate (EB) and estradiol cypionate (ECP)⁽¹⁰⁾ at synchronization protocol's beginning can result in lysis of the corpus luteum (CL) being formed, besides inducing termination of the follicular wave in progress thus allowing for emergence of a new one 3 to 4 d later^(9,13). Besides, administering F2a prostaglandins (PGF2a) at protocol's end ensures lysis of whatever CL is there⁽¹⁾. Estrus synchronization using short term protocols based on progestogens increases animals in estrus, obtaining 90 % of animals in heat in the first 48 h after end of treatment⁽⁸⁾. This is of particular importance in recipient synchronization within embryo transfer programs in bovines, which require a greater degree of estrus synchronization, besides ensuring a luteal function after estrus, essential for transferred embryo survival⁽¹⁴⁾.

When withdrawn from the vagina, CIDRs still have progesterone and the amount depends on the insertion period length⁽⁴⁾. For a 9 d insertion period, residual progesterone content amounts to 1.1 g and 0.9 g after 15 d^(15,16). On the other hand, the amount released by a CIDR inserted in vagina for 7 d was 0.61 ± 0.01 g⁽⁷⁾. Taking into account the advantage of using short term protocols for estrus synchronization, together with total progesterone release and residual content in CIDRs after such protocols, the possibility of reusing CIDRs in AI estrus synchronization programs was considered

En el caso del CIDR, cuando éste es retirado de la vagina aún contiene progesterona y la cantidad residual depende del tiempo que duró insertado⁽⁴⁾. Si su permanencia es de 9 días, retiene alrededor de 1.1 g de progesterona y si permanece 15 días retiene aproximadamente 0.9 g^(15,16). Por otra parte, también ha sido estudiada la cantidad total de progesterona liberada por un CIDR mantenido en el interior de la vagina por siete días, la cual fue de 0.61 ± 0.01 g⁽⁷⁾. Considerando la ventaja en cuanto a grado de sincronización de estros al utilizar protocolos cortos de siete días, aunado a las características de liberación y retención de progesterona del CIDR, se ha previsto la posibilidad de reutilización del dispositivo en programas de sincronización estral para inseminación artificial (IA), con buen éxito cuando la reutilización ha sido por una sola vez^(7,17,18).

La progesterona residual en el CIDR después de mantenerlo en la vagina por 15 días (0.9 g), abre la posibilidad de una segunda reutilización del dispositivo, sin embargo, hasta ahora no se han realizado estudios en cuanto a la calidad de la sincronización de estros después de esta segunda reutilización. El ahorro en cuanto al costo de programas de sincronización estral para IA o en protocolos de transferencia de embriones, que podría ser de poco más del 60 % al reutilizar dos veces el CIDR, hace atractiva esta estrategia en términos económicos. La posibilidad de transmisión de enfermedades venéreas con esta práctica, implicaría a su vez algunas consideraciones sanitarias como la reutilización sólo en animales de un mismo hato y sólo en hatos con un buen estado de salud.

El objetivo del presente estudio, fue evaluar las características de sincronización estral logradas a partir de la reutilización de CIDRs por una o dos ocasiones, utilizando vacas receptoras en un programa de transferencia de embriones como modelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección y manejo de los animales experimentales

El trabajo se realizó durante el otoño en la finca ganadera Tenacitas, a 65 km al sureste del municipio

and put into practice, being successful when reused only once^(7,17,18).

Residual progesterone content after a 15 d insertion period (0.9 g) opens the possibility of a second reuse. However, no studies have been made on synchronization quality after a second reuse. Savings on estrus synchronization programs costs either for AI or embryo transfer, which could amount to 60 %, make this strategy economically attractive. The possibility of venereal disease transmission, imply taking into account some hygienic concerns, as using them only in the same herd, if healthy.

The objective of the present study was to assess estrus synchronization characteristics obtained by reusing CIDRs once or twice in recipient cows within an embryo transfer program.

MATERIALS AND METHODS

Selection and management of experimental animals

This experiment was carried out in Tenacitas livestock ranch, 65 km SW of Soto la Marina in the state of Tamaulipas, Mexico, 25 m asl, in the humid tropics, 22 °C average annual temperature, mainly summer rainfall⁽¹⁹⁾. One hundred and thirty two dry non gestating black Brangus, 4 ½ - 10 ½ yr old were selected. Their ovarian structures suggested cyclic activity and no anatomic alterations in the reproductive system which could affect their fertility were detected. These animals were graded 3 - 3 ½ in body condition score in a 1 to 5 scale (1= extremely thin, 5= obese)⁽²⁰⁾. Cows were placed at random in three estrus synchronization treatments for later use as recipients in an embryo transfer program. Animals had free access to water and to African star grass pastures. Furthermore, 15 d before start of embryo transfer program and across its length, a commercial nutritional complement, 24.0 % crude protein, 0.8 % fat and 7.7 % crude fiber, was fed at 1.5 kg/animal/day (Suplemento proteico pastoreo 24®, MNA de Mexico S.A. de C.V., Nuevo León, Mexico).

Treatments

Estrus synchronization treatments were applied sequentially to the experimental groups with a

de Soto la Marina, en Tamaulipas, México; a 25 msnm. El clima de la región es trópico húmedo, con temperatura promedio anual de 22 °C y con un régimen de lluvias en verano⁽¹⁹⁾. Se seleccionaron 132 vacas sin cría, Brangus variedad negra, de 4.7 a 10.5 años de edad, no gestantes, con estructuras ováricas sugerentes de actividad cíclica, y sin alteraciones anatómicas en el tracto reproductor que pudieran afectar su fertilidad. Las vacas seleccionadas presentaban una condición corporal de 3 a 3.5 puntos en una escala de 1 a 5 (1=extremadamente delgado, 5=muy obeso)⁽²⁰⁾ y fueron asignadas al azar a uno de tres tratamientos de sincronización estral para posteriormente ser utilizadas como receptoras en un programa de transferencia embrionaria (TE). Los animales experimentales se mantuvieron en condiciones de libre pastoreo, en praderas de zacate estrella africana con agua a libre acceso. Así mismo, 15 días antes de iniciar el programa de TE y durante todo el proceso de éste, se les suministró durante el pastoreo 1.5 kg por animal por día de un complemento nutricional comercial (Suplemento proteico pastoreo 24[®], MNA de México S.A. de C.V. Nuevo León), que contenía 24.0 % de proteína cruda, 0.8 % de grasa y 7.7 % de fibra cruda.

Tratamientos

Los tratamientos de sincronización estral fueron aplicados secuencialmente a los grupos experimentales con diferencia de ocho días entre cada uno de ellos. En el tratamiento testigo (CIDR_n, n=45) se utilizaron dispositivos intravaginales liberadores de progesterona nuevos (CIDR-B[®], 1.9 g Interag, Hamilton, Nueva Zelanda). En el tratamiento experimental 1 (n = 44), se utilizaron CIDRs de primera reutilización (CIDR₁) que provenían de la sincronización del grupo testigo (CIDR_n) y en el tratamiento experimental 2 (n = 43), se utilizaron CIDR's de segunda reutilización (CIDR₂) recuperados de la sincronización del grupo CIDR₁. Para su reutilización los CIDRs fueron lavados en agua corriente inmediatamente después de retirados y secados a temperatura ambiente antes de reinsertarlos. La inserción intravaginal se hizo empleando un aplicador estándar, recubriendo el dispositivo con ungüento lubricante hidrosoluble

difference of 8 days between them. Control group (CIDR_n, n=45) was synchronized using new intravaginal progesterone release devices (CIDR-B[®], 1.9 g, Interag, Hamilton, New Zealand). In treatment 1 (n=44), first reuse CIDRs were used, and in Treatment 2 (n=43), second reuse devices were used. CIDRs were first used in Control, then in Treatment 1 and finally in Treatment 2. Before reuse, devices were washed in running water immediately after being removed and dried at room temperature before being reinserted. Insertion was performed by means of a standard applicator, covering the device with a bacteriostatic water-soluble lubricant (Basoflavina[®], Intervet, Mexico), to reduce infection risk in vagina. Immediately after device insertion (d 0), 2.0 mg estradiol benzoate (EB; CIDIROL[®], Bomac, New Zealand) were applied intramuscularly (IM). CIDRs were kept inserted for 7 d and when removed an injection (IM) of 150 µg prostaglandin F2a was applied to each animal (PGF2a, Prosolvin C[®], Intervet, Mexico).

Estrus detection

This task was performed visually (homosexual mount), beginning 24 h after device removal. Observations were done thrice daily (0700, 1500 and 2300) for 2 h in each period. Detection was ended after 80 h observation, thus eight estrus detection periods were set.

Embryo transfer procedure

Embryo transfer was carried out seven days after a cow showed estrus. Before performing the transfer, recipients were selected when showing synchrony \pm 12 h between embryo development stage and day of estrus cycle at the moment of embryo transfer. Afterwards, cows were injected with 5 ml Lidocaine 2% (AmTech[®], Phoenix Scientific Inc., USA) in the *cavum epidurale*. To carry out ET, this criterion was followed, cows should have shown estrus and afterwards a CL had to be identified through transrectal ultrasonography (Omega Vison[®], E.I. Medical, USA, 5.0 Mhz linear transducer) on the day of transfer. Embryos were bought from a commercial enterprise (Ultimate Genetics, USA) and only embryos graded quality

de acción bacteriostática para disminuir el riesgo de infecciones vaginales (Bovoflavina[®], Intervet, México). Enseguida de la inserción del CIDR (día 0), se administró una inyección intramuscular (IM) con 2.0 mg de benzoato de estradiol (BE; CIDIROL[®], Bomac, Auckland, Nueva Zelanda). El CIDR permaneció insertado durante siete días y al momento del retiro se aplicó a cada animal una inyección IM de 150 mg de prostaglandina F2a (PGF2a; Prosolvin C[®], Intervet, México).

Detección de la conducta estral

La detección de la conducta estral se realizó de manera visual (monta homosexual), iniciando 24 h después de haber retirado el tratamiento; la observación fue hecha tres veces al día (0700, 1500 y 2300) con 2 h de duración en cada período, y concluyendo la detección al completar 80 h de observación. De esta manera, se establecieron ocho períodos de detección de estros.

Procedimiento de transferencia de embriones

La TE se realizó siete días después de que la vaca mostró conducta estral. Antes de la transferencia, la vaca receptora fue seleccionada por presentar una sincronía de ± 12 h entre el estadio de desarrollo embrionario y el día de ese ciclo estral al momento de la transferencia. Posteriormente, la vaca fue inyectada con Lidocaína al 2% (5 ml) en el espacio epidural (AmTech[®], Phoenix Scientific Inc, EUA). Para efectuar la TE se aplicó el criterio de haber presentado signos de estro y posteriormente un CL identificado a través de ultrasonografía transrectal (Omega Vison[®], E. I. Medical, EUA, transductor lineal de 5.0 Mhz) el día de la transferencia. Los embriones utilizados fueron adquiridos de una empresa comercial (Ultimate Genetics, EUA) y sólo fueron transferidos embriones clasificados como de calidad 1 y 2 al momento del descongelado. La descongelación del embrión fue efectuada en un paso manteniendo la pajilla al aire, a temperatura ambiente por 7 seg. Posteriormente se sumergió en baño de agua a 35 °C durante 10 seg. El glicerol fue extraído en un paso en solución de sacarosa (One Step Thaw Plus[®], ViGro, ABTechnology, EUA). Finalmente el embrión

1 and 2 when thawed were used. Thawing was carried out in one step holding straws at room temperature for 7 sec and afterwards immersion in water at 35 °C for 10 sec. Glycerol was extracted in one step in a saccharose solution (One Step Thaw Plus[®], ViGro, AB Technology, USA). Finally, embryos were placed in a medium till transfer (Holding Plus[®], ViGro, ABTechnology, USA). Only one embryo was transferred transcervically to each cow by means of a standard applicator as far as possible inside the uterine horn (upper or medium third) ipsilateral to the ovary which showed CL. The same technician performed every transfer, immediately after thawing.

Estrus return in recipient cows and pregnancy diagnosis

Embryo recipients were kept grazing and controlled for an eventual return to estrus. Estrus detection began 10 d after transfer (d 17 of estrus cycle) for seven days two times a day (0700 and 1700) during two hours in each period. Those cows showing estrus were inseminated 12 h later, approximately. Pregnancy diagnosis was performed 60 d after the last insemination through transrectal examination, and when in doubt by ultrasonography.

Blood samples

In order to compare serum progesterone patterns induced by experimental treatments, five animals were chosen at random in each group, which were sampled immediately before CIDR insertion, 12 h after insertion and later every 24 h up to 12 h after device removal (d 7). Blood samples were obtained through puncture in the coccygeal vein and kept a 4 °C for 24 h to allow coagulation and then processed to obtain serum (centrifuged at 890 xg for 15 min). Serum was frozen at -20 °C up to the time of analysis through radioimmunoassay (RIA) to determine progesterone concentration.

Hormone analysis

These tests were carried out in the endocrinology laboratory of the Veterinary School of the Universidad Nacional Autónoma de México. Serum

fue colocado en un medio de mantenimiento hasta ser transferido (Holding Plus®, ViGro, AB Technology, EUA). Un solo embrión fue transferido transcervicalmente a cada vaca, empleando un aplicador estándar para TE. El embrión se colocó lo más profundamente posible en el cuerno uterino (tercio superior o medio) ipsilateral al ovario que presentó un CL. La transferencia de todos los embriones se realizó por un mismo técnico, inmediatamente después de haber sido descongelados.

Retorno al estro en vacas receptoras y diagnóstico de gestación

Las receptoras de embriones fueron mantenidas en pastoreo y controladas para su eventual retorno al estro. La observación de la conducta estral inició 10 días después de haber efectuado la TE (día 17 del ciclo), con una duración de siete días y se realizó dos veces al día: 0700 y 1700 con 2 h de duración en cada período. Aquellas vacas que presentaron estro fueron inseminadas aproximadamente 12 h después. El diagnóstico de gestación se llevó a cabo a los 60 días después de efectuar la última IA por medio de tacto rectal, recurriendo en casos dudosos al empleo de ultrasonografía.

Muestras sanguíneas

Con el fin de comparar los patrones de concentración circulante de progesterona generados por los tratamientos experimentales, en cada uno se seleccionaron al azar cinco animales a los cuales les fueron colectadas muestras sanguíneas inmediatamente antes de la inserción de los CIDRs, 12 h después de insertados y posteriormente cada 24 h hasta 12 h después de retirados (día 7). Las muestras sanguíneas se obtuvieron por punción de la vena coccígea manteniéndose a 4 °C durante 24 h para permitir su coagulación y después de este lapso se procesaron para la obtención de suero (centrifugación a 890 xg durante 15 min), el cual se mantuvo en congelación a -20 °C hasta ser analizado en el laboratorio para determinar por radioinmunoanálisis (RIA) las concentraciones de progesterona.

concentrations of progesterone were determined through a solid phase RIA (Coat a Count®, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA). The bound fraction was quantified in a gamma radiation counter for 1 min and calculations were performed by means of the Riastat software. Assay sensitivity was 0.1 ng/ml, while intra-assay variance coefficient was 3.33 %.

Data analysis

One CIDR was lost in each treatment, so for statistical analysis, CIDRn, CIDR1 and CIDR2 ended with 44, 43 and 42 experimental units, respectively. Response variables were percentage of cows in estrus at second, third and fourth day after CIDR removal (cows in estrus by day/total cows detected in estrus), total percentage of estrus during the synchronization period (PTE; cows in estrus/ treated cows total), percentage of recipient cows showing CL at ET (CLt; cows showing CL/ total cows detected in estrus), percentage of cows pregnant after embryo transfer (PGT; pregnant cows/transferred cows total), percentage of cows pregnant after artificial insemination (PGI; pregnant cows/inseminated post ET estrus cows total) and pregnancy rate obtained with quality 1 (EC₁) and 2 (EC₂) embryos. These variables were analyzed through ANOVA by linear model adjustment for categorical data (PROC CATMOD)⁽²¹⁾. Serum progesterone concentrations throughout the treatment period were analyzed through ANOVA for a repeated measures design, with treatment as effect between experimental units and sampling day and its interaction with treatment as effects within experimental units⁽²¹⁾.

RESULTS AND DISCUSSION

In all treatments CIDR retention was 97.7 %. This concurs with what was reported in other studies for new CIDRs^(22,25) and when CIDRs were reused only once⁽²⁶⁾. Retention rate obtained with new and previously used CIDRs indicates that their design and materials allow them to fasten solidly to the vagina and do not lose this capacity when used two more times, as the wastage rate should not exceed 5.0 %⁽²²⁾.

Análisis hormonal

El análisis hormonal se realizó en el laboratorio de endocrinología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Las concentraciones séricas de progesterona fueron determinadas en un solo ensayo por RIA en fase sólida (Coat A Count®, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, EUA). La fracción unida se cuantificó en un contador de radiaciones gamma durante un minuto, y los cálculos se realizaron con el programa Riastat. La sensibilidad del ensayo fue de 0.1 ng/ml, mientras que el coeficiente de variación intra ensayo fue de 3.33 %.

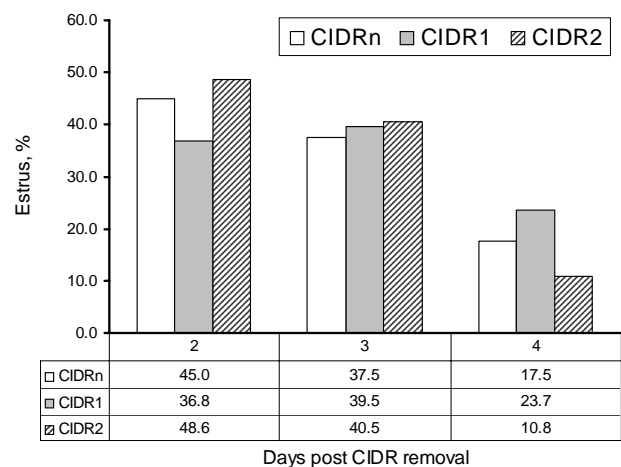
Análisis de la información

En cada uno de los tratamientos se perdió un CIDR, por lo tanto para el análisis estadístico los grupos CIDR_n, CIDR₁ y CIDR₂ finalizaron con 44, 43 y 42 unidades experimentales respectivamente. A partir de los datos obtenidos se estimaron las variables de respuesta porcentaje de estros al segundo, tercer y cuarto día posteriores al retiro del CIDR (vacas en estro por día/total de vacas detectadas en estro), porcentaje total de estros durante el periodo de sincronización (PTE; vacas en estro/total de vacas tratadas), porcentaje de receptoras con cuerpo lúteo al momento de la TE (CLt; vacas con CL/total de vacas detectadas en estro), porcentaje de gestación a la TE (PGT; vacas gestantes/total de vacas transferidas), porcentaje de gestación a la IA (PGI; vacas gestantes/total de vacas IA al estro repetido post-TE) y porcentaje de gestación obtenido con embriones de calidad 1 (EC₁) y calidad 2 (EC₂). Las variables anteriores se analizaron por varianza mediante el ajuste de modelos lineales a datos categóricos (PROC CATMOD)⁽²¹⁾. Las concentraciones séricas de progesterona a lo largo del periodo de tratamiento se analizaron mediante varianza para un diseño de observaciones repetidas, con el efecto de tratamiento como efecto entre unidades experimentales y el día de muestreo y su interacción con tratamiento como efectos dentro de unidades experimentales⁽²¹⁾.

Throughout the period of estrus detection, 24 to 80 h post CIDR removal, no differences between treatments ($P>0.05$) was observed in percentage of cows in estrus by day (Figure 1). In the present study, in accordance with previous experience in similar estrus synchronization treatments, and to reports from other authors in zebu cattle⁽²⁷⁾, estrus detection began 24 h after CIDR removal. In fact, in the first detection period, 24 to 26 h after CIDR removal, no cows in estrus were seen in any treatment. The first estrus began after 32 h (22.5, 23.7 and 32.4 % of cows in estrus in CIDR_n, CIDR₁ and CIDR₂, respectively), with a greater response in the second and third days after CIDR removal (43.5 and 39.2 % of cows in estrus, respectively) and a significantly smaller percentage in the fourth day (17.3 % of cows in estrus). Ryan *et al*⁽²⁸⁾ observed that a greater percentage of estrus occurred on the second day post-treatment (51.5 %), when using a similar estrus synchronization protocol in dairy cows (CIDR 7 d, 10 mg estradiol benzoate on d 0 and PGF_{2a} on d 6). However, these authors

Figura 1. Porcentaje de vacas en estro a diferentes días después de retirados los CIDRs

Figure 1. Cows in estrus at different days post CIDR removal (%)



CIDR_n= Control (new device, n=40); CIDR₁= Treatment 1 (first reuse device, n=38); CIDR₂= Treatment 2 (second reuse device, n=37).

(Treatment and Treatment x Day, $P>0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los tres tratamientos el porcentaje de retención del CIDR fue de 97.7 %. Esto concuerda con otros trabajos donde el porcentaje de retención fue similar cuando se aplicó CIDR nuevo⁽²²⁻²⁵⁾ y cuando el CIDR fue reutilizado en una ocasión⁽²⁶⁾. El porcentaje de retención alcanzado con CIDR nuevo y reutilizado indica que su diseño y el material con que está fabricado le permiten anclarse bien en la vagina y no perder fuerza al reutilizarlo en dos ocasiones, ya que el porcentaje de pérdida no debe exceder del 5.0 %⁽²²⁾.

Durante el periodo en que se llevó a cabo la detección de estros, 24 a 80 h post-retiro de CIDRs, no se encontraron diferencias entre tratamientos ($P > 0.05$) en el porcentaje de estros por día (Figura 1). En el presente trabajo, de acuerdo a experiencias previas con tratamientos de sincronización estral similares, y a lo observado por otros investigadores en ganado cebú⁽²⁷⁾, la detección de estros se inició a partir de las 24 h posteriores al retiro de los CIDRs. De hecho, durante el primer periodo de detección, 24 a 26 h post-retiro de CIDRs, no se observaron vacas en estro en ninguno de los tratamientos experimentales. Los primeros estros empezaron a presentarse a partir de las 32 h (22.5, 23.7 y 32.4 % en CIDR_n, CIDR₁ y CIDR₂, respectivamente) con una mayor proporción de animales en estro durante el segundo y tercer día post-retiro de CIDRs (43.5 y 39.2 %, respectivamente) y un porcentaje sensiblemente menor durante el cuarto día (17.3 %). Ryan *et al.*⁽²⁸⁾ observaron que el mayor porcentaje de estros ocurría al segundo día post-tratamiento (51.5 %), cuando utilizaron un protocolo de sincronización similar en vacas lecheras (CIDR 7 días, 10 mg BE al día 0 y PGF2a al día 6). Sin embargo, estos autores encontraron a su vez 28.5 % de vacas en estro durante el primer día post-tratamiento y algunas vacas en estro todavía después del cuarto día (4.9 %); el porcentaje de animales en estro a las 48 h en las seis variantes de tratamiento fue de 70.4 a 98.7 %, con el mayor porcentaje de vacas en estro al segundo día post-tratamiento en todas menos una de las variantes. La diferencia en distribución de presentación de estros en el presente

found 28.5 % of cows in estrus on the first day post-treatment and a very small percentage (4.9 %) on the fourth. Animals in estrus at 48 h post-treatment in the six treatments evaluated by Ryan *et al.*⁽²⁸⁾ varied between 70.4 and 98.7 %, with the greater frequency on the second day on all treatments except one. Difference in estrus distribution between this and Ryan's *et al.* study⁽²⁸⁾, was probably related to a difference in time of application of PGF2a in respect to CIDR removal (previous vs same day). Applying PGF2a on the same day apparently slowed down estrus presentation until after 32 h. However, accumulated estrus percentages on the second and third day were very high (82.7 %), similar to what Ryan *et al.* reported for the second day⁽²⁸⁾, when PGF2a was applied one day previous CIDR removal. This delay in estrus presentation dependent on the time of luteolysis in relation to CIDR removal had been reported by Macmillan and Burke⁽²⁹⁾, who found that due to this factor estrus presentation at 48 h fluctuated between 29 and 75 % when using CIDRs with gelatin capsules containing 10 mg EB and without administering PGF2a. Regardless of the small delay in presentation of the first estruses post CIDR removal, synchronization obtained in all treatments can be considered as very good, as all estruses practically were grouped in only three days without being affected by CIDR reuse. In estrus synchronization models which do not include hormones as EB to synchronize follicular waves, estrus dispersion is considerably higher, as is the case of estrus synchronization based only on PGF2a⁽²⁹⁾. However, even when follicular waves are synchronized, time interval to obtain the greatest estrus response in estrus synchronization protocols based on progestogens could differ. This according to differences in the interval between follicular wave synchronization treatment and progestogen removal^(13,30,31).

PTE during synchronization period (24 to 80 h after CIDR removal) did not differ ($P > 0.05$) between cows synchronized with new or used CIDRs (Table 1). In the present study, the decision was made to observe estrus until the 80 h observation period was completed. Maybe some cows showed estrus after this period and therefore

REUTILIZACIÓN DE CIDR-B PARA SINCRONIZAR EL ESTRO

Cuadro 1. Porcentaje total de estros durante el periodo de sincronización y de cuerpos lúteos y gestación a la transferencia embrionaria en vacas sincronizadas con CIDR nuevo o reutilizado

Table 1. Total estrus percentage throughout synchronization period and corpora lutea and pregnancy rate in an embryo transfer program using new or reused CIDRs

Treatments	Recipients	PTE	CLt	PG
CIDR _n	44	40 (90.0)	38 (95.0)	16 (42.1)
CIDR ₁	43	38 (88.4)	35 (92.1)	13 (37.1)
CIDR ₂	42	37 (88.1)	36 (97.3)	13 (36.1)

CIDR_n= Control (new device); CIDR₁= Treatment 1 (first reuse device); CIDR₂= Treatment 2 (second reuse device); PTE= Total estrus percentage during synchronization period, 24 - 80 h; CLt= Percentage of recipient cows showing corpus luteum on d 7 post-synchronized estrus; PG= Pregnancy rate.

($P>0.05$).

trabajo con respecto a lo publicado por Ryan *et al*⁽²⁸⁾, probablemente se encuentra asociada al tiempo diferente de aplicación de PGF2a con respecto al retiro del CIDR (día previo *vs* mismo día). La aplicación de PGF2a el mismo día de retiro del CIDR aparentemente retrasó la presentación de los primeros estros hasta después de las 32 h, aunque el porcentaje acumulado de estros del segundo y tercer día alcanzó un porcentaje alto (82.7 %) y muy similar al que se presenta a 48 h cuando la PGF2a se aplica el día previo al retiro del CIDR⁽²⁸⁾. Este retraso en la presentación del estro dependiente del momento de luteólisis en relación al retiro del CIDR ya había sido observado por MacMillan y Burke⁽²⁹⁾, quienes encontraron debido a ese factor porcentajes de presentación de estros a 48 h entre 29 y 75 % cuando usaron CIDRs con cápsulas de gelatina conteniendo 10 mg de BE sin aplicación de PGF2a. Independientemente del ligero retraso en la presentación de los primeros estros post-retiro de CIDRs, el grado de sincronía obtenido en todos los tratamientos experimentales se puede calificar como muy bueno, con la agrupación de estros en sólo tres días sin que esto se viera afectado por la reutilización de los CIDRs. En esquemas de sincronización estral en los que no se incluyen hormonas como BE para sincronizar a su vez la emergencia de oleadas de desarrollo folicular, la dispersión de los estros resulta sensiblemente mayor como es el caso de la sincronización estral basada solo en el uso de PGF2a⁽²⁹⁾. Sin embargo, aún

were not detected, as in other studies cows in estrus were detected even at 108 h^(1,32). Even taking this fact into account, PTE in this study was similar to those reported in other studies in which different protocols and products were used, as CIDR (92.5 %) and PRID (91.5 %)⁽¹⁾. Moreover, similar results were obtained with PRID (90.4 %) and Norgestomet (86.2 %) in subcutaneous implant (Crestar[®]), when estrus were synchronized and observation periods reached 120 h⁽²⁾.

Percentage of recipient cows with a CL on d 7 post-synchronized estrus did not differ between treatments ($P>0.05$). In the present study, recipient cows were subjected to 2 selection criteria, i) to show estrus during synchronization period (24 – 80 h post CIDR removal) and ii) to have a CL 7 d after. Percentage of recipients cows showing CL and therefore selected for embryo transfer was more than 90 % in the three treatments, results similar or better to those reported by other authors in which selection criteria included CL presence^(33,34). Lack of CL detection in recipients cows which responded with estrus in the three experimental treatments (5.0, 7.9 and 2.7 % for CIDR_n, CIDR₁ and CIDR₂, respectively), could reflect the margin of error expected in rectum palpation and ultrasonography for CL detection during diestrus, especially when CLs are small^(35,36).

Estrus synchronization using CIDRs reused up to two times did not affect ($P>0.05$) pregnancy rate

con la utilización de hormonas para sincronizar la emergencia de las olas de desarrollo folicular, en los esquemas de sincronización basados en progestágenos puede haber diferencias en cuanto al momento en que se presenta el mayor porcentaje de estros, dependiendo del momento de aplicación del agente sincronizador de la oleada con respecto al retiro del progestágeno^(13,30,31).

El PTE durante el periodo de sincronización (24 a 80 h post-retiro de CIDRs) no fue diferente ($P > 0.05$) entre vacas que fueron sincronizadas con CIDR nuevo o reutilizado (Cuadro 1). En este trabajo se decidió realizar la observación de estros hasta completar 80 h, tal vez algunas vacas presentaron conducta estral después de este período y no fueron detectadas en estro, ya que en diferentes programas de sincronización con CIDR fueron detectadas vacas en celo incluso a las 108 h^(1,32). A pesar de esta situación, el PTE en cada tratamiento fue similar a otros reportes donde utilizaron diferentes protocolos y productos como CIDR (92.5 %) y PRID (91.5 %)⁽¹⁾. Resultados similares se obtuvieron con PRID (90.4 %) y con norgestomet (86.2 %) en implante subcutáneo (Crestar[®]), al sincronizar estros en vacas receptoras de embriones en donde los períodos de observación fueron de 120 h⁽²⁾.

El porcentaje de receptoras con CL al día 7 post-estro sincronizado no fue diferente entre los tratamientos de sincronización utilizados ($P > 0.05$). En el presente estudio, las vacas receptoras fueron sometidas a dos criterios de selección, el primero fue que manifestaran conducta estral durante el periodo de sincronización (24 a 80 h post-retiro de CIDRs) y el segundo que presentaran un CL siete días después. El porcentaje de receptoras con CL y por lo tanto seleccionadas para recibir un embrión superó el 90 % en los tres tratamientos experimentales, porcentaje que resulta similar o incluso superior al encontrado por otros autores en los que el criterio de selección de receptoras incluía la presencia de CLs^(33,34). La falta de detección de cuerpos lúteos en receptoras que respondieron con estro a los tratamientos experimentales (5.0, 7.9 y 2.7 % para los grupos CIDR_n, CIDR₁ y CIDR₂ respectivamente), podría reflejar el margen

obtainado at ET respect of the one found in the group synchronized with new CIDRs (Table 1). In embryo transfer programs, pregnancy rates depend on several factors related on the one hand to the recipient and on the other to the embryo^(37,38,39).

With reference to the estrus synchronization treatment used in the recipient, this can influence pregnancy rate depending on the quality of the CL formed after estrus synchronization⁽⁴⁰⁾. When the embryo transfer program is based on using fresh embryos, success in terms of pregnancy rate is influenced by the percentage of estrus response to the synchronizing treatment in recipient cows and the degree of synchronization obtained^(1,26). The pregnancy rate obtained in the present study (38.4 %) was considerably lower than those obtained in other studies in which progesterone in intra vaginal devices (63.9 %) or in implants (63.6 %) was used^(1,2). When CIDR synchronization protocols are used it is fairly common to obtain pregnancy rates of more than 50 %, however there have been instances where pregnancy rates of slightly more than 40 % or even less than 30 % were reported^(33,34,41,42). The cause for this low fertility has not been established, although it could be related to the quality of the embryo or of the subsequent uterus environment after estrus synchronization. *Bo et al*⁽³³⁾ suggest that for recipients synchronized through protocols based on progestogens, these could also act as inductors of estrus and ovulation in recipients which are actually in an anestrus condition, and that this situation could be the cause of low pregnancy rates occasionally observed. A low nutritional status of recipients could also affect pregnancy rate. In the present study, recipients showed good body condition score (3 to 3.5) when chosen, besides showing ovarian structures implying a cyclic ovarian activity, which lead us to believe that these factors did not affect the pregnancy rate. On the other hand, fertility to artificial insemination in recipients who repeated estrus after embryo transfer (78 % pregnancy rate) does not suggest intrinsic fertility problems (Table 2). Besides, the fact that they showed a normal length ovulation cycle post synchronized estrus (20.7 d) implies an adequate time-span luteal phase, and most probably problems were due to early embryo development

Cuadro 2. Porcentaje de receptoras que retornaron al estro después de realizar la transferencia de embriones y de gestación logrado por inseminación artificial en cada tratamiento

Table 2. Percentage of recipient cows which returned to estrus after embryo transfer and pregnancy rate obtained through artificial insemination

Treatments	Recipients which returned to estrus (%)	Pregnant (%)	Estrus cycle length (d)
CIDR _n	17 (44.7)	13 (76.5)	21.2 ± 1.8
CIDR ₁	21 (60.0)	17 (81.0)	20.6 ± 1.4
CIDR ₂	17 (47.2)	13 (76.5)	20.3 ± 2.0

CIDR_n= Control (new device, n=38); CIDR₁= Treatment 1 (first reuse device, n=35); CIDR₂= Treatment 2 (second reuse device, n=36).

($P > 0.05$).

de error que se ha demostrado tanto para la palpación rectal como para la ultrasonografía en la detección de cuerpos lúteos durante el diestro, sobretodo cuando los CLs son pequeños^(35,36).

La sincronización del estro con CIDR reutilizado hasta en dos ocasiones no afectó ($P > 0.05$) el PG obtenido a la TE con respecto a lo encontrado en el grupo de receptoras sincronizadas con CIDR nuevo (Cuadro 1). En los programas de TE, los PG dependen de diversos factores relacionados por un lado con la receptora y por otro con el embrión que le es transferido^(37,38,39). En cuanto al tratamiento de sincronización estral aplicado a la receptora, este puede influir en el PG a partir de la calidad del CL formado después del estro sincronizado⁽⁴⁰⁾. Cuando el programa de TE está basado en el uso de embriones frescos, el porcentaje de respuesta al tratamiento de sincronización estral en las receptoras y el grado de sincronización logrado también pueden influir en el éxito del programa en términos de PG^(1,26). El PG que se obtuvo en el presente trabajo (38.4 %) fue menor al encontrado en otras investigaciones en que se empleó progesterona en dispositivos intravaginales (63.9 %), o progestágenos en implantes subcutáneos (63.6 %) para sincronizar el estro en las hembras receptoras^(1,2). En el caso de protocolos de sincronización con CIDRs, es frecuente encontrar porcentajes de gestación a la transferencia embrionaria superiores a 50 %, sin embargo, existen ocasiones en las cuales el PG ha sido ligeramente superior a 40 % o inclusive por debajo de 30 %^(33,34,41,42). La razón de esa baja

failure to the degree that they were unable to send adequate signals for early pregnancy recognition⁽⁴³⁾. For recipients who did not repeat estrus between 17 and 24 d post synchronized estrus and were found non pregnant (13.0, 3.0 and 17.0 % for CIDR_n, CIDR₁ and CIDR₂, respectively), there is a possibility of occurrence of late embryo loss (after d 24)⁽⁴⁴⁾ or misdetection of estrus during the repeat period. However, it was not possible to estimate which of these two circumstances had incidence or if the cause of failure in pregnancies was due to the recipient or to the embryo. When the incidence of both factors was assessed by means of a statistical model, between 30 and 40 % of recipients who failed pregnancy, were due to incompetent embryos⁽⁴⁵⁾. If in contrast pregnancy failure in this study was due to incompetent recipients, and taking into account the climate of the location where this study was carried out, one possibility could be that alterations suffered in the uterine environment associated to thermal stress, could affect embryo development of those that could not adapt themselves to these circumstances⁽⁴⁶⁾. Even taking into account these last issues, no differences were found between CIDR_n, CIDR₁, and CIDR₂ in return to estrus after embryo transfer, post synchronized estrus cycle length and fertility to artificial insemination (Table 2).

No differences ($P > 0.05$) were found in pregnancy rates for recipients transferred with EG₁ and EG₂ in each treatment (Table 3). Embryo quality is a factor that can be associated to results of ET, as

Cuadro 3. Distribución y porcentaje de gestación obtenido en cada tratamiento por calidad de embrión del total de receptoras que recibieron transferencia de embriones

Table 3. Pregnancy rate by embryo quality in transferred recipients and distribution of embryos according to quality in each treatment

Treatment	Recipients showing CLt	Distribution		PG by embryo quality	
		EC ₁	EC ₂	EC ₁ (%)	EC ₂ (%)
CIDR _n	38	20	18	11 (55.0)	5 (28.0)
CIDR ₁	35	18	17	8 (44.0)	5 (29.0)
CIDR ₂	36	19	17	6 (32.0)	7 (41.0)

CIDR_n= Control (new device); CIDR₁= Treatment 1 (first reuse device); CIDR₂= Treatment 2 (second reuse device); CLt= Percentage of recipient cows showing corpus luteum on d 7 post-synchronized estrus; PG= Pregnancy rate; EC₁= Embryo quality 1; EC₂= Embryo quality 2.

($P>0.05$).

fertilidad no ha sido precisada, aunque como ya se mencionó pudiera estar asociada a la calidad del embrión transferido o la calidad del medio ambiente uterino de la receptora posterior al estro sincronizado. Bo *et al*⁽³³⁾ sugieren que en el caso de receptoras sincronizadas con protocolos a base de progestágenos, estos también podrían actuar como inductores del estro y la ovulación en hembras que de hecho estuvieran en anestro y que esa condición podría ser la razón de bajos porcentajes de gestación al igual que una mala condición nutricional de la receptora. En el presente trabajo, las receptoras utilizadas presentaron una condición corporal buena al momento de ser seleccionadas (3 a 3.5 puntos), además de estructuras ováricas sugerentes de actividad cíclica ovárica por lo que estos factores probablemente no afectaron los resultados de gestación. Por otra parte, la fertilidad a la I.A. en las receptoras que repitieron estro después de la transferencia (78 % de fertilidad, Cuadro 2), no sugiere un problema de fertilidad intrínseca en estas receptoras. Además, el hecho de que presentaran una duración normal del ciclo ovulatorio post-estro sincronizado (20.7 días), implica que la fase lútea de ese ciclo fue adecuada en duración y que lo que seguramente estuvo comprometido fue el desarrollo temprano de los embriones, al grado de que no fueron capaces de generar la señal adecuada de reconocimiento temprano de la gestación⁽⁴³⁾. En el caso de las receptoras que no repitieron estro entre los 17 a 24

in several studies the pregnancy rate has been higher when excellent quality embryos have been used^(37,38,47). Taking into account results published by authors already mentioned, and to the fact that EG1 and EG2 were available for this study, it was deemed necessary to distribute them equitably between treatments so as not to influence results. However, as has been mentioned before, no differences for pregnancy rate were found when using either good or excellent quality embryos, as reported in other studies^(39,48,49).

Serum progesterone concentration pattern following CIDR insertion was similar between treatments (Figure 2; effects of treatment and treatment per day, $P>0.05$). On the other hand, CSP was influenced by day of treatment ($P<0.01$) showing lower progesterone levels on day 0 (1.9 ng/ml) and 12 h post CIDR removal (2.7 ng/ml), in comparison to concentrations 12 h post CIDR insertion (5.3 ng/ml) and the ones found between d 1 to 6 (5.5 ng/ml). Increase in CSP 12 h post insertion was affected by treatment ($P<0.05$), showing a lower increase in CIDR₂ (+1.3 ng/ml) than in group CIDR_n (+5.6 ng/ml). CIDR₁ showed a CSP increase 12 h post CIDR insertion (3.3 ng/ml) which was not different from the other experimental groups. Differences in initial plasma progesterone increase were also observed in ovariectomized Holstein cows post insertion of new or reused CIDRs (2.4 ± 0.20 vs 1.8 ± 0.27 ng/

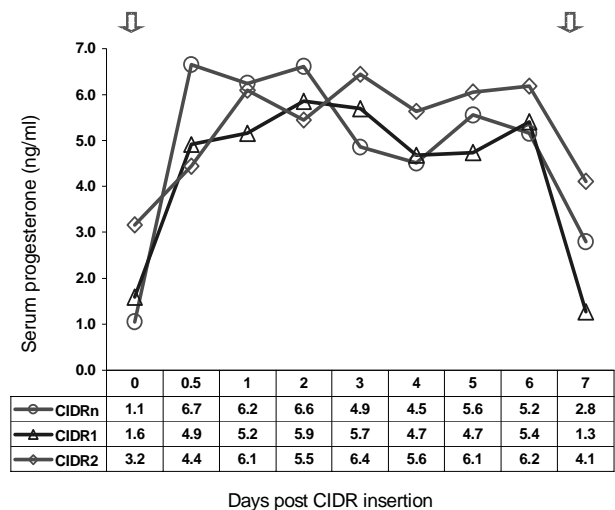
días post-estro sincronizado y que se encontraron no gestantes al diagnóstico de gestación (13, 3 y 17 % para CIDR_n, CIDR₁ y CIDR₂), existe por un lado la posibilidad de que la pérdida embrionaria hubiera sido tardía (posterior al día 24)⁽⁴⁴⁾, o que no hubieran sido detectadas en estro durante el periodo de repetición. Sin embargo, no fue posible estimar cuál de estas situaciones fue la que se presentó, ni en general si la causa del fracaso en la gestación fue provocada por incompetencia del embrión o de la receptora. Cuando la contribución de ambos factores fue evaluada sobre la base de un modelo estadístico, entre el 30 y 40% de las receptoras que tuvieron un fracaso en la gestación, lo tuvieron debido a que se transfirieron embriones incompetentes a receptoras competentes⁽⁴⁵⁾. En caso de tratarse de un problema de receptora “no competente” y dadas las condiciones climáticas de donde se realizó el estudio, una posibilidad es que alteraciones en el medio ambiente uterino asociadas a efectos de estrés térmico, afectara el desarrollo de embriones que no pudieran adaptarse a esa condición⁽⁴⁶⁾. Independientemente de lo anterior, no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre los grupos CIDR_n, CIDR₁ y CIDR₂ en el porcentaje de retorno a estro después de la TE, duración del ciclo post-estro sincronizado o fertilidad a la I.A. (Cuadro 2).

No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) en el porcentaje de receptoras gestantes que fueron transferidas con un EG₁ y EG₂ en cada tratamiento (Cuadro 3). La calidad del embrión es un factor que puede relacionarse con los resultados obtenidos en la TE, ya que en diferentes trabajos el porcentaje de gestación ha sido superior cuando se transfieren embriones de calidad excelente^(37,38,47). Considerando la información publicada por los distintos autores mencionados y dado que para el estudio se disponía de EG₁ y EG₂, fue necesario distribuirlos de manera equitativa en los tratamientos, para que de esta forma no fuera favorecido alguno de ellos e influyera en los resultados. Sin embargo, como ya se mencionó, no se encontraron diferencias en el porcentaje de gestación cuando se transfirieron embriones de calidad buena o excelente, en forma similar a lo observado en otras investigaciones^(39,48,49).

ml, 12 h post insertion), differences which shrank as time elapsed (1.9 vs 1.2 ng/ml, on d 8 post insertion)⁽⁴⁾. It has been estimated that progesterone content in a new CIDR (1.9 g) can decrease to 0.68 g after being used twice in 7 d periods⁽⁷⁾. This decrease in progesterone concentration could have been the cause of a lower drug release in CIDR₂ compared to the other two groups. However, both in ovariectomized and fully functional cows, a great variation in CSP induced by new or used CIDRs between individuals, and in each individual during the time devices remain inserted, has been found, apparently linked to a different capacity to metabolize progesterone and not to CIDR release rate^(4,13,16). Besides, exposure to progesterone previous to CIDR insertion or functional CL

Figura 2. Promedio de las concentraciones séricas de progesterona (ng/ml) durante el periodo de tratamiento en el subgrupo correspondiente de vacas muestreadas en forma intensiva después de la inserción de CIDRs

Figure 2. Mean serum progesterone concentrations (ng/ml) throughout treatment period in intensively sampled cows after CIDR insertion



Vertical Arrows indicate CIDR insertion and removal day. CIDR_n= Control (new device, n=5); CIDR₁= Treatment 1 (first reuse device, n=5); CIDR₂= Treatment 2 (second reuse device, n=5).

Treatment and Treatment x Sampling day, $P > 0.05$;

El patrón de concentración sérica de progesterona (CSP) posterior a la inserción de CIDRs fue similar entre tratamientos experimentales (Figura 2; efectos de tratamiento y tratamiento x día, $P > 0.05$). Por otra parte, la CSP fue influenciada por el día de tratamiento ($P < 0.01$) observándose una concentración menor de progesterona al día 0 (1.9 ng/ml) y 12 h post-retiro de CIDRs (2.7 ng/ml), comparado con las concentraciones a las 12 h post-inserción de (5.3 ng/ml) y en los días subsiguientes hasta antes de su retiro (promedio días 1 a 6, 5.5 ng/ml). El incremento en la CSP a las 12 h post-inserción fue influenciado ($P < 0.05$) por el tratamiento, con un menor incremento en el grupo CIDR₂ (+1.3 ng/ml) comparado con el grupo CIDR_n (+5.6 ng/ml). El grupo CIDR₁ presentó un incremento de la CSP a las 12 h post-inserción que no difirió (3.3 ng/ml, $P > 0.05$) del de los otros dos grupos experimentales. Diferencias en el incremento inicial de la concentración plasmática de progesterona se han observado también en vacas Holstein ovariectomizadas que recibieron un CIDR nuevo vs un CIDR usado (2.4 ± 0.20 ng/ml vs 1.8 ± 0.27 ng/ml 12 h post-inserción), con una disminución en estas diferencias conforme avanzó el tiempo post-inserción de los dispositivos (1.9 vs 1.2 ng/ml al día 8 de tratamiento)⁽⁴⁾.

Se ha estimado que la cantidad de progesterona contenida en el CIDR nuevo (1.9 g) puede disminuir hasta 0.68 g después de ser empleado para la sincronización del estro en dos ocasiones por períodos de 7 días⁽⁷⁾. Esa disminución podría haber provocado que la cantidad de progesterona liberada fuera menor en el grupo CIDR₂ comparada con la ocurrida en los grupos CIDR_n y CIDR₁. Sin embargo, tanto en vacas ovariectomizadas como intactas, se ha encontrado una gran variación entre individuos en las CSP inducidas por CIDRs nuevos o reutilizados, así como dentro de cada individuo durante el periodo en que se mantiene insertados los dispositivos, la cual aparentemente está asociada a una diferente capacidad para metabolizar la progesterona y no a una diferente tasa de liberación a partir del CIDR^(4,13,16). Así mismo, se ha observado que el estado de exposición a progesterona previo a la inserción del CIDR y la presencia o ausencia de un CL funcional al momento

presence or absence, determine the initial plasma progesterone increase level, which is noticeably higher in ovariectomized females^(4,50,51). After initial increase, serum progesterone concentrations were similar ($P > 0.05$) between treatments, with mean, minimal and maximal values during the insertion period of 5.7 ± 0.9 , 5.2 ± 0.8 and 5.8 ± 0.4 ng/ml, 1.2 and 10.5, 1.6 and 13.9, 1.6 and 9.9 ng/ml, respectively for CIDR_n, CIDR₁ and CIDR₂. From d 4 post CIDR insertion, only four cows showed CSP values < 3 ng/ml (one, two and one cow in CIDR_n, CIDR₁ and CIDR₂, respectively). Similar values are reported by Macmillan *et al.*⁽⁵⁰⁾ in Hereford*Angus heifers treated with new CIDRs. However, van Cleeff *et al.*⁽⁴⁾ found lower values in lactating Holstein cows (2.4 and 1.5 ng/ml mean plasma progesterone during insertion period with new or used devices, respectively). In general, CIDR induced CSP in the three experimental groups was enough to inhibit ovulation and foster an adequate estrus synchronization (Figure 1, Table 1). One of the possible problems arising when CIDR induced concentrations are sub-luteal, as was the case of some experimental animals in the present study, is that even when ovulation is blocked, LH pulse frequency does not decrease enough⁽⁵²⁾. This can promote the persistence of a dominant follicle, which when being ovulatory, can affect fertility in a synchronized estrus due to oocyte premature maturation before release⁽⁵³⁾. However, this does not constitute a problem in embryo transfer programs, as in these, synchronization and normal CL formation following are the important factors. Although in the present study, luteal function following estrus synchronization was not graded, the high percentage of recipients showing CL at 7 d post estrus (94.8 %), and the normal cycle length of those individuals who repeated, makes us believe that synchronizations methods used did not interfere CL formation following estrus synchronization.

CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS

CIDRs reused once or twice, after having been used in 7 d estrus synchronization treatments, releases enough progesterone to block ovulation and synchronize estrus just as a new device. CIDR

de la inserción, determinan el nivel de aumento inicial de la concentración plasmática de progesterona el cual es sensiblemente mayor en animales ovariectomizados^(4,50,51).

Posterior al incremento inicial de progesterona, las concentraciones séricas de esta hormona fueron similares ($P > 0.05$) entre tratamientos, con una concentración promedio durante el periodo en que los dispositivos se mantuvieron insertados de 5.7 ± 0.9 , 5.2 ± 0.8 y 5.8 ± 0.4 ng/ml y concentraciones mínimas y máximas en el total de muestras por grupo de 1.2 y 10.5, 1.6 y 13.9, 1.6 y 9.9 ng/ml para CIDRn, CIDR₁ y CIDR₂, respectivamente. A partir del día 4 post-inserción, solamente cuatro vacas presentaron valores de CSP < 3 ng/ml (una, dos y una vacas en CIDRn, CIDR₁ y CIDR₂). Valores similares fueron encontrados por Macmillan *et al*⁽⁵⁰⁾ en vaquillas Hereford x Angus tratadas con disyuntivos nuevos, sin embargo, Van Cleeff *et al*⁽⁴⁾ encontraron valores menores en vacas Holstein lactando (2.4 y 1.5 ng/ml como promedio de progesterona plasmática durante el tratamiento con CIDR nuevo y usado). En general, las CSP inducidas por los CIDRs en los tres grupos experimentales fueron suficientes para impedir la ocurrencia de ovulaciones y para promover una respuesta adecuada de sincronización estral (Figura 1, Cuadro 1).

Uno de los problemas que podría presentarse cuando las concentraciones inducidas por los CIDRs son subluteales, como es el caso de algunos de los animales experimentales en el presente estudio, es que a pesar de que se bloquean las ovulaciones⁽³⁾ no se disminuye suficientemente la frecuencia de pulsos de secreción de LH⁽⁵²⁾. La condición anterior puede promover la persistencia de un folículo dominante, que al ser el ovulatorio en el estro sincronizado afecta la fertilidad debido a una maduración prematura del ovocito antes de ser liberado⁽⁵³⁾. Sin embargo, esto no representa un problema en los programas de TE, en los que lo importante es el grado de sincronización logrado y la formación de un CL normal posterior al estro sincronizado. Si bien en este trabajo no se valoró la función lútea posterior a los estros sincronizados, el alto porcentaje de receptoras con CL al día 7 post-estro (94.8 %) y la duración normal del ciclo

reuse is a valid alternative for estrus synchronization in cows selected as recipients in embryo transfer programs because it does not interfere with their capacity to maintain pregnancies of the transferred embryos. Taking into account that CIDRs are usually discarded after being used only once, their reuse up to two times signifies reducing costs up to 33 % per synchronized cow in bovine embryo transfer programs. It is worth mentioning that for a successful CIDR reuse program, the possibility of transmitting diseases should be eliminated, or at least reduced considerably. To this end, this practice should be carried out only within healthy herds.

End of english version

en los receptoras que repitieron, hace suponer que los tratamientos de sincronización utilizados no interfirieron con la formación del CL posterior al estro sincronizado.

CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

El CIDR reutilizado por una o dos ocasiones, después de ser usado en tratamientos de sincronización estral de siete días, libera cantidades suficientes de progesterona para bloquear la ovulación y sincronizar el estro en forma equivalente a un dispositivo nuevo. La reutilización del CIDR constituye una alternativa para sincronizar el estro en vacas seleccionadas como receptoras de embriones pues no parece afectar su capacidad para mantener la gestación de los embriones transferidos. Si se toma en cuenta que normalmente el dispositivo es desechado después de ser empleado en una ocasión, la reutilización del CIDR hasta en dos ocasiones implica un beneficio por disminuir hasta 33 % el costo por vaca sincronizada dentro de un programa de transferencia de embriones en ganado bovino. Es importante mencionar que para llevar a la práctica este esquema de reutilización es necesario limitar la posibilidad de transmisión de enfermedades infecciosas, lo cual puede lograrse a partir de la reutilización sólo en animales de un mismo hato y sólo en hatos con un buen estado de salud.

LITERATURA CITADA

1. Broadbent PJ, Tregaskes LD, Dolman DF, Franklin MF, Jones RL. Synchronization of estrus in embryo transfer recipients after using a combination of PRID or CIDR-B plus PGF2a. *Theriogenology* 1993;(39):1055-1065.
2. Tregaskes LD, Broadbent PJ, Dolman DF, Grimmer SP, Franklin MF. Evaluation of Crestar, a synthetic progestogen regime, for synchronizing oestrus in maiden heifers used as recipients of embryo transfer. *Vet Record* 1994;(134):92-94.
3. Rathbone MJ, Macmillan KL, Inskeep K, Burggraaf S, Bunt CR. Fertility regulation in cattle. *J Control Release* 1998;(54):117-148.
4. Van Cleeff J, Lucy MC, Wilcox CJ, Thatcher WW. Plasma and milk progesterone and plasma LH in ovariectomized lactating cows with new or used controlled internal drug release devices. *Anim Reprod Sci* 1992;(27):91-106.
5. Macmillan KL, Peterson AJ. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrous synchronization increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. *Anim Reprod Sci* 1993;(33):1-25.
6. Rathbone MJ, Macmillan KL, Bunt CR, Burggraaf S. Conceptual and commercially available intravaginal veterinary drug delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev* 1997;(28):363-392.
7. Rathbone MJ, Bunt CR, Ogle CR, Burggraaf S, Macmillan KL, Burke CR, *et al.* Reengineering of a commercially available bovine intravaginal insert (CIDR insert) containing progesterone. *J Controlled Release* 2002;(85):105-115.
8. Macmillan KL, Taufa VK, Day AM. Combination treatments for synchronising oestrus in dairy heifer. *Proc NZ Soc Anim Prod* 1993;(53):267-270.
9. Bo GA, Adams GP, Caccia M, Martinez MF, Pierson RA, Mapletoft RJ. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Anim Reprod Sci* 1995;(39):193-204.
10. Burke CR, Boland MP, Macmillan KL. Ovarian responses to progesterone and oestradiol benzoate administered intravaginally during dioestrus in cattle. *Anim Reprod Sci* 1999;(55):23-33.
11. Thundathil J, Kastelic JP, Mapletoft RJ. The effect of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular development and ovulation in dairy cattle. *Can J Vet Res* 1997;(61):314-316.
12. Colazo MG, Kastelic JP, Mapletoft RJ. 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* 2003;(60):855-865.
13. Utt MD, Jousan FD, Beal WE. The effects of varying the interval from follicular wave emergence to progestin withdrawal on follicular dynamics and the synchrony of estrus in beef cattle. *J Anim Sci* 2003;(81):1562-1567.
14. Hasler JF. 1992. Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. *J Dairy Sci* 75:2857-2879.
15. Macmillan KL, Washburn SP, Henderson HV, Petch SF. Effects of varying the progesterone content of CIDR intravaginal devices and multiple CIDR treatments on plasma hormone concentrations and residual hormone content. *Proc NZ Soc Anim Prod* 1990;(50):471-472.
16. Peterson AJ, Henderson HC. Plasma progesterone concentrations in ovariectomized dairy cows treated with a CIDR-B breeding device [abstract]. *J Reprod Fertil* 1990;(43):315.
17. Richardson AM, Hensley BA, Marple TJ, Johnson SK, Stevenson JS. Characteristics of estrus before and after first insemination and fertility of heifers after synchronized estrus using GnRH, PGF2a, and progesterone. *J Anim Sci* 2002;(80):2792-2800.
18. Stevenson JS, Johnson SK, Medina-Britos MA, Richardson-Adams AM, Lamb GC. Resynchronization of estrus in cattle of unknown pregnancy status using estrogen, progesterone, or both. *J Anim Sci* 2003;(81):1681-1692.
19. García E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Cuarta edición. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 1987.
20. Houghton PL, Lemenager RP, Moss GE, Hendrix KS. Prediction of postpartum beef cow body composition using weight to height ratio and visual body condition score. *J Anim Sci* 1990;(68):1428-1437.
21. SAS. SAS/STAT User's Guide (Release 8.0). Cary NC, USA Inst. Inc. 1999.
22. Broadbent PJ, Stewart M, Dolman DF. Recipient management and embryo transfer. *Theriogenology* 1991;(35):125-139.
23. Ryan DP, Snijders S, Yaakub H, O'Farrell KJ. An evaluation of oestrus synchronization programs in reproductive management of dairy herds. *J Anim Sci* 1995;(73):3687-3695.
24. Hanlon DW, Williamson NB, Wichtel JJ, Steffert IJ, Craigie AL, Pfeiffer DU. The effect of estradiol benzoate administration on oestrous response and synchronized pregnancy rate in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone. *Theriogenology* 1996;(45):775-785.
25. Chenault JR, Boucher JF, Dame KJ, Meyer JA, Wood-Follis SL. Intravaginal progesterone insert to synchronize return to estrus of previously inseminated dairy cows. *J Dairy Sci* 2003;(86):2039-2049.
26. Colazo MG, Kastelic JP, Whittaker PR, Gavaga QA, Wilde R, Mapletoft RJ. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. *Anim Reprod Sci* 2004;(81):25-34.
27. Tribulo HE, Bo GA, Kastelic JP, Pawlyshyn V, Barth AD, Mapletoft RJ. Estrus synchronization in cattle with estradiol-17 b and CIDR-B vaginal devices [abstract]. *Theriogenology* 1995;43:340.
28. Ryan DP, Galvin JA, O'Farrell KJ. Comparison of oestrous synchronization regimens for lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 1999;(56):153-168.
29. Macmillan KL, Burke CR. Effects of oestrous cycle control on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci* 1996;(42):307-320.
30. Martínez MF, Bergfelt DR, Adams GP, Kastelic JP, Mapletoft RJ. Synchronization of follicular wave emergence and its use in an estrus synchronization program [abstract]. *Theriogenology* 1997;(47):146.
31. García A, Salaheddine M. Effect of oestrus synchronization with estradiol 17b and progesterone on follicular wave dynamics in dairy heifers. *Reprod Dom Anim* 2001;(36):301-307.
32. Martínez MF, Adams GP, Kastelic JP, Bergfelt DR, Mapletoft RJ. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology* 2000;(54):757-769.
33. Bo GA, Baruselli PL, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tribulo R, Tribulo H, Mapletoft RJ. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 2002;57:53-72.

REUTILIZACIÓN DE CIDR-B PARA SINCRONIZAR EL ESTRO

34. Nasser LF, Reis EL, Oliveira MA, Bo GA, Baruselli PS. Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* x *Bos taurus* recipients. *Theriogenology* 2004;62:1577-1584.
35. Ribadu AY, Ward WR, Dobson H. Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. *Vet Record* 1994;(135):452-457.
36. Hanzen CH, Pieterse M, Scenzi O, Drost M. Relative accuracy of the identification of ovarian structures in the cow by ultrasonography and palpation per rectum. *Vet J* 2000;(159):161-170.
37. Hasler JF, McCauley AD, Lathrop WF, Foote RH. Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology* 1987;(27):139-168.
38. Hasler JF. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology* 2001;(56):1401-1415.
39. Spell AR, Beal WE, Corah LR, Lamb GC. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology* 2001;(57):287-297.
40. Garcia A, Salaheddine M. Ultrasonic morphology of the corpora lutea and central luteal cavities during selection of recipients for embryo transfer [abstract]. *Theriogenology* 1996;(49):243.
41. Elsdon RP. Mexican government uses embryo transfer to increase production of national dairy herd. *Theriogenology* 1989;(31):47-48.
42. McMillan WH. Statistical models predicting embryo survival to term in cattle after embryo transfer. *Theriogenology* 1998;(50):1053-1070.
43. Peterson AJ, Lee RSF. Improving successful pregnancies after embryo transfer. *Theriogenology* 2003;(59):687-697.
44. Chagas e Silva J, Lopes da Costa L, Robalo Silva J. Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo-fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle. *Theriogenology* 2002;(58):51-59.
45. McMillan WH. Potential survival rates to term for transferred in vitro and in vivo-produced embryos [abstract]. *Theriogenology* 1996;(45):233.
46. Lozano DR. Efecto del estrés calórico sobre el desarrollo folicular, la fertilidad, el desarrollo y calidad del embrión y la función lútea en vacas Holstein [Tesis doctorado]. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2004.
47. Smith AK, Broadbent PJ, Dolman DF, Grimmer SP, Davies DAR, Dobson H. Norgestomet implants, plasma progesterone concentrations and embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Vet Record* 1996;(139):187-191.
48. Leibo SP. Commercial production of pregnancies from one-step diluted frozen-thawed bovine embryos [abstract]. *Theriogenology* 1986;(25):166.
49. Arreseigor CJ, Sisul A, Arreseigor AE, Stahringer RC. Effect of cryoprotectant, thawing method, embryo grade and breed on pregnancy rates of cryopreserved bovine embryos [abstract]. *Theriogenology* 1998;(49):160.
50. Macmillan KL, Taufa VK, Barnes DR, Day AM. Plasma progesterone concentrations in heifers and cows treated with a new intravaginal device. *Anim Reprod Sci* 1991;(26):25-40.
51. Burke CR, Macmillan KL, Boland MP. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. *Anim Reprod Sci* 1996;(45):13-28.
52. Kojima N, Stumpf TT, Cupps AS, Werth LA, Roberson MS, Wolfe MW, *et al.* Exogenous progesterone and progestins as used in estrous synchrony regimens do not mimic the corpus luteum in regulation of luteinizing hormone and 17 β -estradiol in circulation of cows. *Biol Reprod* 1992;(47):1009-1017.
53. Revah I, Butler WR. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J Reprod Fert* 1996;(106):39-47.