

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN CIENCIA ANIMAL



COMPORTAMIENTO DE LA PROGESTERONA EN PROGRAMAS DE SINCRONIZACIÓN DE LA OVULACIÓN EN VACAS LECHERAS CON DIAGNÓSTICO PREVIO DEL CUERPO LÚTEO

TESIS
QUE PRESENTA

JESÚS JAIME BENÍTEZ RIVAS

COMO REQUISITO PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

MARZO 2010

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Unidad Laguna
División Ciencia Animal

COMPORTAMIENTO DE LA PROGESTERONA EN PROGRAMAS DE SINCRONIZACIÓN DE LA OVULACIÓN EN VACAS LECHERAS CON DIAGNÓSTICO PREVIO DEL CUERPO LÚTEO

Tesis

Jesús Jaime Benítez Rivas

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada
como requisito parcial, para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Comité particular

Presidente:

Dr. Carlos Leyva Orasma

Vocal:

M.C. Juan Luis Morales Cruz

Vocal:

Dr. Francisco Gerardo Véliz Deras

Vocal suplente:

M.C. José Luis Francisco Sandoval Elías

M.C. JOSÉ LUIS FCO. SANDOVAL ELÍAS
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, Marzo 2010

Resumen

Los objetivos de esta investigación fueron Relacionar los niveles de progesterona, con el diagnóstico por palpación rectal de un cuerpo lúteo. Iniciar un esquema de tratamiento para la inseminación a tiempo fijo en vacas con diagnóstico del cuerpo lúteo.

Conocer la dinámica de la progesterona durante la sincronización de la ovulación y hasta los 21 días después del servicio y su comportamiento para vacas vacías y gestantes

En las décadas pasadas se desarrollaron protocolos de manejo reproductivo que sincronizan la presencia del estro usando PGF2 α , estos protocolos no controlan el momento de la inseminación artificial (IA) y por lo general en las vacas lecheras las tasas de preñes son demasiado bajas después de la detección de estro (Lucy et al., 1986). Estas tasas de preñez bajas se pueden deber a una variación en el tiempo de ovulación con respecto al tiempo de la inseminación (Pursley *et al.*, 1997). Afortunadamente se han ideado programas para que las vacas puedan ser inseminadas sin que manifiesten celo (F. Moreira, 2000).

Para comenzar el estudio se llevó a cabo previamente un diagnóstico de gestación (43 ± 3 días post-servicio) conforme al manejo reproductivo del establo, en el cual para el inicio de ambos tratamientos, se integraron al estudio las hembras diagnosticadas vacías y con la presencia de un cuerpo lúteo funcional por palpación rectal. Todos los animales del experimento fueron inyectadas vía intramuscular (IM) con 530 μ g de Prostaglandinas F2 α (Celosil, Schering-Ploung, Friesoythe, Alemania), posteriormente fueron distribuidos aleatoriamente en dos protocolos de sincronización de la ovulación e inseminación a tiempo fijo.

Palabras clave: sincronización TAI, progesterona, ECP, GnRH, cuerpo lúteo y ciclo estral.

ÍNDICE.

Contenido	Página
RESUMEN.....	i
ÍNDICE DE CUADROS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Hipótesis.....	2
1.2 Objetivo General.....	2
1.3 Objetivos específicos.....	3
II REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Definición, estructura química y fuentes fundamentales de la progesterona.....	4
2.1.2.- Prostaglandina f2 alfa definición, fórmula, química, funciones y fuentes fundamentales.....	5
2.1.3.- Función de la GnRH.....	6
2.2.- Función de la progesterona.....	6
2.3.- Variaciones de la progesterona, durante el ciclo estral en la vaca.....	7
2.4.- Influencia de los niveles de progesterona al inicio de los programas de sincronización de la ovulación sobre la fertilidad.....	9

2.4.1 Ovsynch.....	9
2.4.1.1.- Doble Ovsynch.....	12
2.5.- comportamiento de la progesterona en la fase medio luteal Después de la sincronización, su relacion con la gestación.....	13
III MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1 Descripción del área de estudio.....	15
3.2 Descripción de los animales.....	15
3.3 Diseño del experimento.....	16
3.4 Obtención de muestras de sangre para la determinación de progesterona.....	17
3.5.- Variables evaluadas.....	18
VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
4.1 .- Presición del diagnóstico del cl por los niveles de progesterona.....	18
4.2 Comportamiento de la p4 en relación a la fertilidad.....	20
4.3 Dinámica de la p4 en vacas gestantes.....	21
V CONCLUSIONES.....	24
VI LITERATURA CITADA.....	25

ÍNDICE DE CUADROS

Contenido	Página
Cuadro 1.- Tasa de preñez (%) de vacas sincronizadas e inseminadas en ambos protocolos.....	22
Cuadro 2.- Tasa de preñez (%) en relación con los niveles de P4 al inicio y tomando en cuenta el protocolo perteneciente de las vacas inseminadas...	22
Cuadro 3.- Tasa de preñez (%) en relación con los niveles de P4 al inicio del protocolo de las hembras sincronizadas e inseminadas, sin considerar el protocolo utilizado.....	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	Página
Fig 1.- Presición del diagnóstico del cl por los niveles de progesterona...	18
FIG 2.- Comportamiento de la p4 en relación a la fertilidad.....	20
Figura 3.- Dinámica de la p4 en vacas gestantes.....	21
FIGURA 4.- Dinámica de la p4 en vacas vacías.....	21

I.- INTRODUCCIÓN

La vaca es una especie poliéstrica continua en la cual la regulación de la ciclicidad sexual se lleva a cabo bajo el control del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Arthur et al., 1989). En los últimos años se ha visto una creciente producción de leche por vaca debido a las mejoras conseguidas en la formulación de raciones, en el manejo de la alimentación y en la calidad genética de los rebaños (Leyva et al., 2006), ésta última se debe en gran parte a la inseminación artificial, que ha sido una de las herramientas más útiles para dicha mejora en la genética y mayor productividad del ganado (Delgadillo, 2005). Esto ha sido asociado con una disminución en la eficiencia reproductiva (Butler et al., 2002).

En las décadas pasadas se desarrollaron protocolos de manejo reproductivo que sincronizan la presencia del estro usando PGF2 α , estos protocolos no controlan el momento de la inseminación artificial (IA) y por lo general en las vacas lecheras las tasas de preñes son demasiado bajas después de la detección de estro (Lucy et al., 1986). Estas tasas de preñez bajas se pueden deber a una variación en el tiempo de ovulación con respecto al tiempo de la inseminación (Pursley *et al.*, 1997). Afortunadamente se han ideado programas para que las vacas puedan ser inseminadas sin que manifiesten celo (F. Moreira, 2000).

Para maximizar el rendimiento reproductivo de hatos lecheros, las vacas no preñadas necesitan ser inseminadas lo más pronto posible después del periodo de espera voluntario, de igual manera, aquellas que son diagnosticadas como no gestantes al diagnóstico de gestación, deben ser reinseminadas lo más pronto posible (Chebel et al., 2003). Por desgracia, estos avances se han visto parcialmente interrumpidos por un descenso en los parámetros reproductivos.

En los establos de la Comarca Lagunera desde hace mucho tiempo se están utilizando diferentes esquemas de sincronización de la ovulación para la

inseminación a tiempo fijo, pero la fertilidad es cuestionable, posiblemente, entre otros aspectos, se deba al momento inadecuado del ciclo estral para iniciar cualquiera de estos esquemas. En muchas ocasiones, se confía en el diagnóstico de un cuerpo lúteo activo por simple palpación rectal, variando su efectividad en la habilidad del técnico que la realiza, (Moreira *et al.* 2001) y (Cerri *et al.* 2004) opinan que en el estado óptimo del ciclo estral en que el protocolo de IA podría iniciar, corresponde a la fase lútea temprana en los días 5 al 12 del ciclo estral, quienes obtuvieron mayor tasa de gestación con niveles altos de P4

Otro de estos problemas es en la eficiencia reproductiva de hatos lecheros, la baja detección de estros, siendo este un factor limitante en la fertilidad de las vacas lecheras (Hisnant, et al., 1999). Este problema se debe a varios factores ya que la mayoría de los celos son más visibles de noche. Se sabe que con la presencia del CL hay concentraciones altas de progesterona (P4) a nivel sanguíneo, esto es importante porque permite la mejora en la eficiencia de los programas para la sincronización abaratando sus costos. Aplicar una técnica adecuada ha este problema reduciría gastos al ganadero, así aumentaría ganancias significativas en la producción.

1.1 HIPÓTESIS

Las vacas que se les diagnostica un cuerpo lúteo, por medio de palpación rectal mantienen niveles de progesterona por arriba de 1 ng/ml.

1.2.- OBJETIVO GENERAL

Relacionar los niveles de progesterona, con el diagnóstico por palpación rectal de un cuerpo lúteo.

1.3.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.2.1.- Iniciar un esquema de tratamiento para la inseminación a tiempo fijo en vacas con diagnóstico del cuerpo lúteo.

1.2.2.- Conocer la dinámica de la progesterona durante la sincronización de la ovulación y hasta los 21 días después del servicio y su comportamiento para vacas vacías y gestantes.

II.- REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.- DEFINICIÓN, ESTRUCTURA QUÍMICA Y FUENTES FUNDAMENTALES DE LA PROGESTERONA

La P4 es una hormona esteroidea, producida por el cuerpo lúteo (CL) por acción de la LH, a nivel hipotalámico ejerce una acción de retroalimentación negativa sobre el control de la actividad tónica de la secreción de GnRH. (Callejas, 2000). Durante el dominio de la P4 no se requiere de una participación activa de la vulva y la vagina, las glándulas uterinas alcanzan su máximo desarrollo durante el dominio de dicha hormona (Háfez, 2003).

La P4 se origina en el CL de modo similar a los estrógenos, en los testículos y glándulas suprarrenales, es un cetoesteroide que es un interproducto de la biosíntesis de los corticoides adrenales y de los andrógenos, el cual es similar al de los demás esteroides sexuales que se desarrollan del colesterol y de la delta-5pregnolona a partir de un proceso de aromatización, participando así las vitaminas A, C y E. La P4 es secretada por la placenta se encuentra en pequeñas cantidades, en la corteza adrenal y en el testículo, probablemente por constituir un intermediario de los corticoides adrenales y de la testosterona. En los carnívoros la placentas no secreta P4, excepto en la gata al final de la gestación (Diamond, 1994).

Los ovarios producen dos hormonas esteroides, estradiol y progesterona (P4), ésta última contiene 21 carbonos. El colesterol, es un esteroide de 27 carbonos, se transforma en pregnenolona (20 carbonos) cuando su cadena lateral es separada, ésta de manera subsecuente se convierte en P4, que a su vez se convierte en un andrógeno y en estrógeno (Háfez, 2003).

La P4 también se origina por una luteoproteína que aparece para ser LH, promoviendo el desarrollo del CL que éste a su vez da origen a la P4 (John, 1999).

2.1.2.- PROSTAGLANDINA F2 ALFA DEFINICION, FÓRMULA, QUÍMICA, FUNCIONES Y FUENTES FUNDAMENTALES

Los prostanoideos son metabolitos obtenidos del ácido araquidónico a través de la vía metabólica conocida como ciclooxigenasa. Entre ellos puede mencionarse a la PGF₂α, sustancia con actividad marcada sobre el control del ciclo estral. Estructuralmente es un ácido graso insaturado compuesto por 20 átomos de carbono. Contiene un anillo ciclopentano y dos cadenas laterales. Su mecanismo de acción se halla estrechamente relacionado con receptores específicos de membrana que activan una proteína G específica desencadenando la cascada de AMPc y la correspondiente liberación de Ca por medio del fosfatidil inositol (Willis & Smith, 1994; Gether & Kobilka, 1998; Narumiya et al, 1999). Es un agente luteolítico de elevada eficiencia en bovinos, ovinos y cerdos, produciendo una regresión morfológica y funcional del cuerpo lúteo, seguido por el retorno al celo dentro de los 2 a 4 días posteriores al tratamiento, con una ovulación normal. Las prostaglandinas también son usadas o sus análogos sintéticos para novillas y vacas lactantes. Prostaglandinas son producidas por el útero y causan una regresión del CL hacia el final del ciclo natural del estro o celo. Como el cuerpo lúteo regresa, el nivel de progesterona baja, el folículo dominante completa su desarrollo, el celo se expresa, y la ovulación sucede. Cuando la Prostaglandina es inyectada a la vaca o novilla entre el día 5 y 17 del ciclo, el CL va a regresar y la mayoría de animales van a exhibir celo en 2 a 5 días. La F₂α es responsable de inducir la luteólisis hacia el final del diestro o gestación. Cuando son administradas en la segunda mitad de la gestación, promueven la regresión luteal con lo cual producen un descenso de la progesterona plasmática e impulsan las contracciones del miometrio conjuntamente con la oxitocina provocando de esta manera el aborto o la reabsorción de los fetos (Vane & Botting, 1994; Sharif et al, 1998; Narumiya et al, 1999; Niswender et al, 1988; de la Sota y col, 2002).

2.1.3.- FUNCIÓN DE LA GnRH

Un protocolo de inseminación a tiempo fijo (TIA) para ganado incluye una inyección de GnRH en el día 9 (GnRH 1) más una de PGF2 α en el día 2, y una inyección de GnRH en el día de la inseminación o 24 h posteriores. Los protocolos de TIA han tenido resultados consistentes en porcentajes bajos fertilidades que los protocolos donde participa la detección de celo en vacas y vaquillas (Pursley et al., 1997, Johnson and Day, 2004; Larson et al., 2006).

Los porcentajes bajos de preñez pueden deberse a la presencia de pequeños folículos dominantes fisiológicamente inmaduros en la GnRH inducida por la ovulación y la inseminación. La GnRH induce la ovulación de folículos dominantes, disminución de las tasas de preñez en la vacas y vaquillas (Perry et al., 2007) y en las vacas posparto después de la comparación de la TIA con la GnRH induce la ovulación de folículos grandes. La falla en la ovulación en la inyección de GnRH puede ser debido a la ausencia de un folículo dominante, a la presencia de un folículo que ya no es capaz de ovular (atrésico), a la insuficiencia de la secreción de gonadotropinas en respuesta a la primera GnRH o una combinación de estos (Perry et al., 2005).

2.2.- FUNCIÓN DE LA PROGESTERONA

La función de la P4 está ligada a la de los estrógenos, es decir, mientras que estos inician el proceso de crecimiento de los órganos tubulares (estrógenos), la P4 condiciona la diferencia de los tejidos, de tal forma que esta transforma la fase proliferativa en secretora, inhibe la función del miometrio, desarrolla las glándulas alveolares, condiciona el desarrollo adecuado de la placenta, ayuda a mantener la gestación, y también tiene la capacidad de suprimir las secreciones gonadotróficas, por lo que inhibe la maduración de folículos y la ovulación (Diamond, 1994).

Después de producida la fecundación, la P4 inhibe la actividad contráctil del útero y estimula el desarrollo de sus glándulas. A nivel hipotalámico ejerce un efecto de retroalimentación negativa sobre el control de la actividad tónica de la secreción de GnRH (Callejas, 2000). Para prevenir la luteólisis el embrión debe estar bien desarrollado para permitir la suficiente secreción de interferon- π , para prevenir la luteólisis por las secreciones de PGF2 α . En la mucosa del oviducto y del útero, la P4 estimula la secreción de sustancias histotróficas o leche uterina, que es una mezcla de las secreciones de las glándulas uterinas, fluidos del oviducto (Leyva, et al, 2006), que nutrirán al embrión hasta que este comience a hacerlo a través de la placenta. También la progesterona evita las contracciones del útero, cierra el cerviz y modifica las características del moco cervical, volviéndolo más viscoso, lo que evita el paso de agentes extraños al interior del útero. Por otra parte, la P4 estimula el desarrollo del sistema alveolar de la glándula mamaria, preparándola para la síntesis y secreción de leche (Zarco, 1999).

2.3.- VARIACIONES DE LA PROGESTERONA, DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA VACA

Cuando la hembra alcanza la pubertad manifiesta algunos cambios rítmicos en su conducta sexual conocido como celo o estro, en esta etapa se encuentra receptiva sexualmente manteniéndose la progesterona en niveles basales. Los acontecimientos que comienzan en un celo y finalizan en el siguiente reciben el nombre de ciclo estral. En bovinos éste tiene una duración promedio de 21 días (rango:17-25) y se produce en forma continua a lo largo del año, por lo que las hembras bovinas son clasificadas como poliéstricas continuas (Hurnik, 1987; Hafez, 1996)

La Progesterona también prepara el Útero para la preñez, inhibe las contracciones uterinas, y mantiene la preñez. El Cuerpo Lúteo (CL) regresa (empequeñece) en vacas que fallan en quedar preñadas y el nivel de Progesterona baja, el folículo dominante completa su desarrollo, y la vaca

vuelve al estro, iniciando un nuevo ciclo. Si la preñez ocurre, el Cuerpo Lúteo (CL) no regresa (no empequeñece) y los niveles de Progesterona permanecen elevados a través de la preñez (García., 2010)

En la actualidad, los principales métodos de sincronización son a base de progestágenos y su objetivo es retrasar la presentación del estro por medio de progesterona (P4) o progestágenos sintéticos, los cuales imitan la función del cuerpo lúteo, o acelerar el inicio del estro causando la regresión prematura del cuerpo lúteo utilizando agentes luteolíticos como la Prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) o sus análogos (Peters, 1986). Los métodos originales usados para el control del ciclo estral involucra la extensión del período del diestro con la progesterona suficiente para permitir la ocurrencia espontánea de la luteólisis durante el período del tratamiento (Nacarrow et al., 1976).

En datos recientes se indica que el estado del ciclo estral en que inicia el protocolo de TAI afecta los subsecuentes porcentajes de gestación. Debido a que el inicio en la fase lútea tardía entre los días 13 al 17 del ciclo estral, pueda llevar a la prematura regresión del CL, y las vacas son observadas en estro antes de la segunda inyección de GnRH del protocolo de TAI. De la misma forma si se inicia el protocolo de TAI durante la fase de metaestro en los días 1 al 4 del ciclo estral puede llevar al fracaso de la sincronización de una nueva oleada folicular por el momento de la primera inyección de GnRH, tal fracaso puede afectar el folículo ovárico, resultando en un CL que produce bajas concentraciones de P4, seguida de una ovulación inducida por la segunda inyección de GnRH del protocolo de TAI y puede comprometer los subsecuentes porcentajes de gestación. La iniciación del protocolo durante la fase de proestro del día 18 al 21 del ciclo estral, puede resultar en la incompleta regresión del CL después de la aplicación de PGF_{2α} (Moreira *et al.*, 2000), debido a que las vacas con CL en regresión antes de la inyección de PGF_{2α} del protocolo de TAI tuvieron menor fertilidad, debido a la asincronía de la ovulación y la inseminación (Pancarci *et al.*, 2002).

2.4.- INFLUENCIA DE LOS NIVELES DE PROGESTERONA AL INICIO DE LOS PROGRAMAS DE SINCRONIZACIÓN DE LA OVULACIÓN SOBRE LA FERTILIDAD

2.4.1 Ovsynch.

Este programa de sincronización de la ovulación consiste en la inseminación artificial a tiempo fijo (TIA), evita la necesidad de la detección del estro (Fricke, 2004) y los resultados con Ovsynch indican que todas las vacas vacías podrían ingresar al protocolo sin importar su fase del ciclo estral (Pursley *et al.*, 1995). Este protocolo consiste en la inyección de GnRH el día 0, que se encargará de reclutar un folículo ovulatorio; el día 7 de PGF2 α para la regresión del CL y así permitir la maduración del folículo ovulatorio; 48 horas después la segunda inyección de GnRH la cual inducirá la ovulación y de 16 a 20 horas se realizará la IA (Pursley *et al.*, 1997).

Fricke (2004) menciona que la ovulación de un folículo en respuesta a la segunda inyección de GnRH ocurre en un 85% de las vacas productoras que reciben este protocolo. La ovulación ocurre entre 24 a 32 horas en vacas sincronizadas, seguida de una nueva oleada folicular (Pursley *et al.*, 1995).

Algunas veces este sistema es conocido como el sistema Ovsynch de “la puerta trasera”, porque se usa como repasador para las vacas que no fueron detectadas en estro. Es común encontrar menores tasas de concepción en Ovsynch que en IA a estro detectado en hatos que utilizan este protocolo de esta forma (Fricke, 2004).

Algunas variantes se han adaptado en este protocolo, como es el uso de la bST que puede incrementar los porcentajes de gestación debido a los efectos antes de la inseminación, en desarrollo folicular y del CL, que ocurre durante el protocolo de TIA y debido también, a los efectos después de la inseminación. Si la bST incrementa los porcentajes de gestación debido a estos efectos antes de la inseminación, indica por anticipado que los porcentajes de

gestación podrían ser mayores en la aplicación de bST el día 0 del inicio del Ovsynch comparado con la aplicación el día de la IA (Moreira *et al.*, 2000). Así como la incorporación del acetato de melengestrol (progestágeno) para suprimir el estro entre las inyecciones de GnRH y PGF2 α y eliminar la prematura expresión de estro y reforzar la fertilidad de la TIA (Hiers *et al.*, 2003)

El principal factor que limita la fertilidad es la falla en la observación o la detección del calor y por lo tanto no se insemina al ganado en el momento apropiado. Durante muchos años, las prostaglandinas (PGF2 α) se usaron en programas controlados de reproducción después del periodo de espera voluntario (55 a 60 días postparto) bajo palpaciones semanales de ovarios para determinar la presencia de un cuerpo lúteo funcional y observar que las vacas respondieran apropiadamente después de 3 a 5 días de haber recibido la inyección. Este programa ha sido usado en algunas granjas lecheras mejorando la detección de calores. Actualmente han sido desarrollados varios programas reproductivos con el fin de sincronizar grupos de vacas lactantes en distintas fases del ciclo estral sin practicar la palpación rectal (Ruiz, 2004).

Nuevos estudios continúan refinando diversos métodos para la implementación de programas de servicio sistemático de la vaca en producción, alterando el tiempo de la IA con respecto a la ovulación y examinando varios intervalos de tiempo relacionados con las inyecciones del protocolo original (Fricke, 2004). Recientemente, se han utilizado programas como Ovsynch, Cosynch, Presynch y Heatsynch con buenos resultados (Ruiz, 2004). La incorporación sistémica de protocolos de sincronización de la ovulación en los programas reproductivos minimiza la necesidad de la labor de la detección de celo y ayuda a elevar el rendimiento del ganado lechero (Pankowski *et al.*, 1995).

La primera inseminación postparto representa una oportunidad única para el manejo reproductivo de la vaca, por que en ese momento todas las vacas del hato tienen un estado de preñez conocido (vacías), lo cual permite el

uso del sistema de sincronización el cual involucra el uso de PGF2 α sin riesgo de inducir un aborto (Fricke, 2004).

Actualmente en el mercado se encuentran disponibles diferentes tipos de dispositivos intravaginales los cuales contienen concentraciones variadas de progesterona, como por ejemplo tenemos: CIDR-B (1,9 g de progesterona), PRID (1,55 g de progesterona), DIB (1 g de progesterona), DISPOCEL (1 g de progesterona), etc.

Uno de los más utilizados es el CIDR-B. Este dispositivo consta con un implante en forma de T de silicona con un molde de nylon impregnado con 1,9 g de progesterona. La mucosa vaginal absorbe aproximadamente 0,5 a 0,6 mg de progesterona al día, determinándose esta forma el bloqueo hipotalámico-hipofisiario.

El dispositivo es introducido en la cavidad vaginal a través de un aplicador semejante a un espejo que mantiene las extremidades de la T aproximadas a manera de facilitar su introducción. La extremidad distal del CIDR contiene un filamento de nylon que al final del periodo de utilización sirve para la remoción del dispositivo por tracción.

El protocolo tradicional de utilización del CIDR preconiza la permanencia del dispositivo en la cavidad vaginal por un periodo de 9 días. En el día de aplicación del dispositivo se recomienda la aplicación intramuscular de 2 mg de Benzoato de Estradiol, principalmente con el objetivo de sincronizar el crecimiento folicular. En este mismo momento se administran 50 mg de progesterona vía intramuscular para auxiliar el inicio del bloqueo. Para grupo de animales cíclicos que serán tratados, se hace necesaria la aplicación de prostaglandina al momento de la retirada de los dispositivos. Como auxiliar del desencadenamiento de la ovulación, es de utilidad la administración de 1 mg de Benzoato de Estradiol intramuscular en el décimo día del protocolo, realizando la inseminación artificial a tiempo fijo cercano a las 50 hs posteriores a la retirada del dispositivo.

Existen protocolos que prevén la sustitución de Benzoato de Estradiol por dos aplicaciones de 100 mcg de GnRH, siendo la segunda realizada en el momento de la inseminación artificial.

En vacas que están amamantando terneros con gran probabilidad de que se encuentren en estado de acíclia, al momento de retirar el CIDR, en vez de prostaglandina, se recomienda la aplicación de 400 a 700 UI de eCG, realizando un destete temporario de los terneros por 48 hs. En el décimo día del protocolo se inyecta por vía intramuscular 1 mg de Benzoato de Estradiol, realizando la inseminación artificial a tiempo fijo 24 hs después (Becaluba, 2006).

2.4.1.1.- DOBLE OVSYNCH

En los exámenes de sangre obtenidos de un subgrupo de vacas tratadas con estos dos programas ovsynch tradicional y Doble-Ovsynch de Presincronización Obtuvieron concentraciones de progesterona circulante al inicio del Ovsynch IATF. Se obtuvo una mayor proporción de vacas que tenían alta concentración de progesterona circulante después de Doble-Ovsynch comparado con el presynch tradicional. En consecuencia, Doble-Ovsynch indujo más vacas a iniciar ciclicidad antes del protocolo de IA tiempo fijo.

Actualmente, el grupo del Dr. Wiltbank en la Universidad de Wisconsin continúa desarrollando más investigación para estudiar las razones de fondo que explican una mayor fertilidad del protocolo Doble-Ovsynch (Wiltbank, 2008) quien coincide con un estudio realizado por Khalloub 2008 donde el protocolo de Doble-Ovsynch, consiste en GnRH el Día 0, D-Cloprostenol el Día 7, GnRH el Día 9, GnRH el Día 16, D-Cloprostenol el Día 23, GnRH el Día 25 e IATF 16 h más tarde. Por ejemplo, un estudio reciente usando variaciones de Doble-Ovsynch (Cunha et al., 2008) también apoya la hipótesis de que las mayores concentraciones de progesterona circulante durante el intervalo de la primera GnRH a la PGF₂ de Ovsynch IATF es necesaria para maximizar la fertilidad en vacas que reciben IATF (protocolo con baja progesterona = 33.2%,

n=259 vs protocolo con alta progesterona = 48.2%, n=255). De modo que las recientes modificaciones en algunos procedimientos de IATF parecen mejorar las tasas de concepción de los animales tratados con Ovsynch.

2.5.- COMPORTAMIENTO DE LA PROGESTERONA EN LA FASE MEDIO LUTEAL DESPUÉS DE LA SINCRONIZACIÓN, SU RELACION CON LA GESTACIÓN

La progesterona contribuye a modular el ambiente endocrino preovulatorio y puede afectar la función del cuerpo lúteo subsecuente. Alternativamente la secreción insuficiente o excesiva de progesterona se ha asociado con alta mortalidad embrionaria y ciclos estrales prolongados, quizá debido a una incompatibilidad entre la función del útero y el desarrollo del embrión. A pesar de bastos estudios no se sabe con certeza cuales eventos o funciones reproductivas son afectados específicamente, ni cuales son los factores ambientales que inciden sobre la fertilidad (Villagomez., et al, 2000)

Al realizar la sincronización de la ovulación para mejorar los porcentajes de inseminación a primer servicio, se reduce el impacto de la pobre eficiencia en la detección de celos, después de realizar la inseminación, algunos animales que fallan en la concepción tardan un largo periodo que puede exceder los sesenta días respecto a la previa IA para que puedan ser nuevamente reinseminadas (Fricke *et al.*, 2003), para esto es necesaria la incorporación de métodos efectivos de diagnóstico para identificar a las hembras vacías y reiniciar rápidamente con los servicios, y así mejorar la eficiencia reproductiva, los porcentajes de gestación y disminuir los intervalos entre servicios (Fricke, 2002).

El uso de la P4 para la sincronización tuvo origen en Nueva Zelanda y Australia, donde se utilizó el CIRP (Controlled-Internal Drug-Releasing), que es un dispositivo que contiene P4, que fue usado en los primeros protocolos de sincronización para la inseminación y resincronización. En la práctica, el dispositivo CIRP es insertado por un periodo de seis a ocho días, empezando

en los días 14 ó 16 después de previa inseminación con la aplicación de cipionato de estradiol (0.5 a 1.0 mg), para ayudar a sincronizar la oleada folicular. El benzoato de estradiol (0.5 a 1.0 mg), puede aplicarse a la remoción del dispositivo, para incrementar el comportamiento del estro, ya que una de las limitaciones de la sincronización con P4 es el requerimiento de la detección de estro seguido al tratamiento, también mejora la respuesta ovulatoria, una alternativa es la administración de GnRH en sustitución de está hormona para sincronizar la oleada folicular (McDougall y Leoffler, 2004).

Chebel *et al.*, 2003, comentan que la aplicación de la primera inyección de GnRH del programa de Ovsynch, a una hembra previamente inseminada, no causa daño a la gestación en curso. La primera inyección del protocolo de Ovsynch puede ser dada a todas las vacas aproximadamente una semana antes del diagnóstico de gestación. Las vacas que son subsecuentemente diagnosticadas como vacías, pueden ser inyectadas con PGF2 α y 48 horas después, inyectar con GnRH antes de inseminar a tiempo fijo. Si el diagnóstico de gestación por ultrasonido ocurre el día 28, entonces la reinseminación de las vacas vacías por TIA será en el día 30 a 31 y concluye que se obtienen altos porcentajes de gestación.

Los ciclos de corta duración ocurren normalmente en la primera ovulación espontánea posparto en la mayoría de vacas de carne (Day et al 1990); La liberación prematura de PGF2a por el útero (Cooper et al 1991), como resultado de los efectos de la baja progesterona (Zollers et al 1993) y estradiol (Mann et al., 2000) antes de la ovulación en los receptores de oxitocina y progesterona endometriales parecen ser la causa de la temprana regresión del cuerpo lúteo. La progesterona producida durante la fase luteal corta puede ser necesaria para el establecimiento de una función luteal normal en el siguiente ciclo estral (Short et al 1990; Mihm 1999).

La mayoría de las vacas vacías retornan a estro entre los días 20 a 24 después de la primera inseminación. Si el diagnóstico de gestación por ultrasonido se realiza aproximadamente el día 29, las vacas que no están

gestantes, se encuentran entre los días 5 y 9 del subsecuente ciclo estral. Esta fase temprana del ciclo estral representa un periodo donde el CL es sensible a la PGF2 α y el folículo dominante está presente en el ovario. Así, un simple sistema de dos inyecciones que consiste en la aplicación de PGF2 α para la regresión del CL y la GnRH administrada cuarenta y ocho horas más tarde estimula la ovulación, logrando una rápida resincronización, fijando el tiempo de la IA (Lucy, 2005).

III MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Descripción del área de estudio.

La presente investigación se llevó a cabo en el establo Ampuero localizado en el km 6.5 de la carretera Torreón-Mieleras del municipio de Torreón, Coahuila, situado en la latitud 26° norte, longitud 103° oeste y a una altitud de 1,140 m sobre el nivel del mar (Schmidt, 1989), la temperatura promedio es de 23.4°C y la precipitación pluvial promedio anual es de 230 mm³ (C.N.A., 2006). El establo cuenta con 1855 animales en producción, en sistema intensivo, teniendo un promedio de producción diaria de 30.02 litros por vaca, llevándose a cabo 3 ordeñas diarias iniciando la primera a la 08:00 hrs., la segunda a las 16:00 hrs. y la tercera a las 24:00 hrs.

3.2 Descripción de los animales.

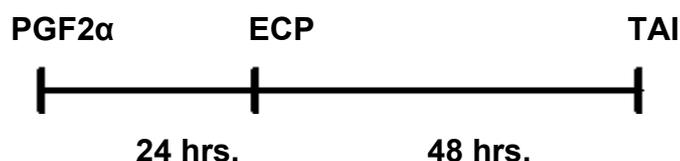
Se utilizaron 79 vacas Holstein, con peso corporal entre 500 y 600 kg, con producción láctea similar, buen estado de salud general y con un número similar de servicios. Las vacas fueron alimentadas a libre acceso con una dieta con una proporción de forraje / concentrado de 48.5 /51.5, respectivamente, el alimento fue ofrecido por la mañana, tarde y noche coincidiendo con el horario de las ordeñas.

3.3 Diseño del experimento.

Para comenzar el estudio se llevó a cabo previamente un diagnóstico de gestación (43 ± 3 días post-servicio) conforme al manejo reproductivo del establo, en el cual para el inicio de ambos tratamientos, se integraron al estudio las hembras diagnosticadas vacías y con la presencia de un cuerpo lúteo funcional por palpación rectal. Todos los animales del experimento fueron inyectadas vía intramuscular (IM) con 530 μg de Prostaglandinas $\text{F2}\alpha$ (Celosil, Schering-Ploung, Friesoythe, Alemania), posteriormente fueron distribuidos aleatoriamente en dos protocolos de sincronización de la ovulación e inseminación a tiempo fijo.

Cuadro 1.- Heatsynch

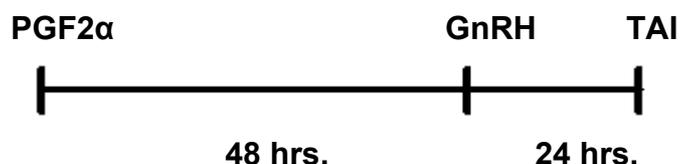
Protocolo de sincronización de la ovulación a tiempo fijo para la rápida inseminación, con la aplicación de ECP.



Grupo A (n 39)= PGF2 α (IM), 24 hrs. Posteriormente se aplicó 1mg de ECP (ECP, Pharmacia & Upjohn, Kalamazoo, MI, EUA), (IM) y se inseminaron a las 48 hrs independientemente de los signos de celo.

Cuadro 2.- Ovsynch

Protocolo de sincronización de la ovulación a tiempo fijo para la rápida inseminación, con la aplicación de GnRH.



Grupo B (n 40)= PGF2 α (IM), 48 hrs. posteriores se aplicó 100 μ g de GnRH (Fertagyl, Intervet, Milan, Italia), (IM) y se inseminaron a las 16 hrs independientemente de los signos de celo.

Para la aplicación de los tratamientos se utilizaron jeringas de tres a cinco ml y agujas desechables

Todas las hembras de los dos grupos, fueron inseminadas con semen de toro de fertilidad probada por técnicos inseminadores de basta experiencia. El celo fue identificado por medio de actividad electrónica, crayones en la base de la cola, observación y palpación rectal, para verificar la calidad del estro en que se encontraba el animal. Las vacas que no presentaron un celo después de la inseminación, se diagnosticaron por palpación rectal, a los 43 \pm 3 días post-servicio para la identificar el estado de gestación.

3.4 Obtención de muestras de sangre para la determinación de progesterona.

Las muestras de sangre se recolectaron de la vena coccigea al momento del diagnóstico del cuerpo lúteo, al momento de realizar IA, 13 días después de la IA y la última toma de muestra fue 21 días después de la IA, se utilizaron agujas Vacutainer desechables en tubos de 7.0 ml con 40.0 μ g de heparina como anticoagulante. Los tubos con las muestras obtenidas se centrifugaron a 2,500 rpm para la separación del plasma que se congeló en tubos Eppendorff a -20°C hasta el día de la determinación hormonal. Las muestras de plasma fueron procesadas en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de México, para la determinación de progesterona y se realizó el método de radioinmunoanálisis (RIA) de fase sólida para cuantificar los niveles de esta hormona, mediante un componente de un equipo comercial (COAT-A-COUNT, progesterone).

3.5.- Variables evaluadas.

En el experimento se valoraron para ambos grupos las siguientes variables:

- Precisión del diagnóstico del cuerpo lúteo al inicio del tratamiento por los niveles de progesterona sérico
- Relación entre los niveles de progesterona al inicio del tratamiento con las tasas de concepción.
- Dinámica de la progesterona durante el tratamiento y hasta los 21 días post-servicio

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El diagnóstico del CL del total de las vacas que entraron al experimento, sin considerar a que grupo serían designadas, fue confirmado por lo niveles plasmáticos de P4, donde las vacas que tuvieron concentraciones de $\geq 1\text{ng/ml}$ fueron significativamente mayores comparadas con las vacas que tuvieron $< 1\text{ng/ml}$, como se ilustra en la figura 1

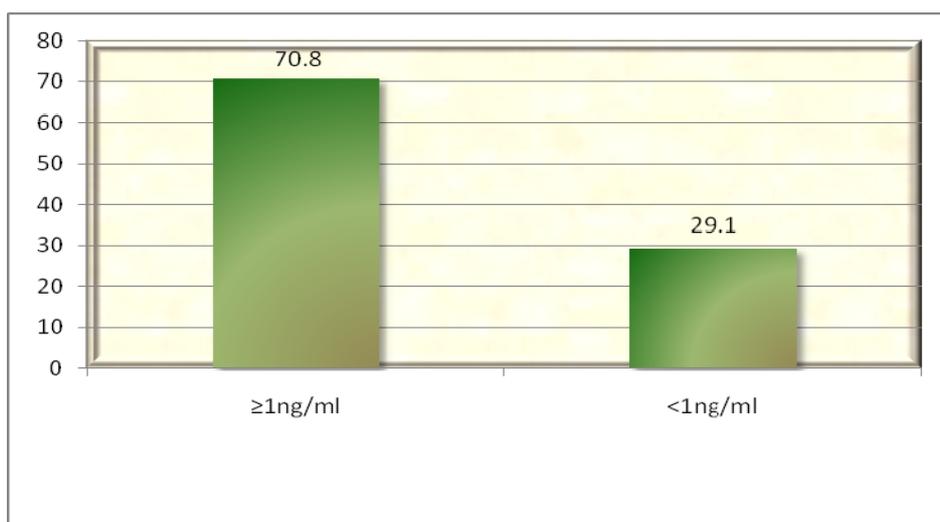


Fig 1.- PRESIÓN DEL DIAGNÓSTICO DEL CL POR LOS NIVELES DE PROGESTERONA

Según la sincronización corta hay una efectividad del 70.8% a la palpación rectal que contienen niveles mayores a 1 ng/ml. Esta figura representa el porcentaje total de las vacas que entraron al experimento y se diagnosticaron con CL por palpación rectal además se confirmaron mediante niveles de P4 en ng/ml.

Varios días después de la ovulación las concentraciones circulantes de P4 alcanzan niveles de 1 ng/ml, que generalmente se aceptan como evidencia de la existencia de un CL activo, sin embargo, las concentraciones siguen elevándose, alrededor de una semana después de la ovulación, las concentraciones características de una fase lutea corresponden de 6 a 10 ng/ml, manteniéndose esos niveles hasta el reconocimiento materno de la gestación (Zarco, 2005), en este estudio se considero que el 100% de las vacas tenían presente un CL, sin embargo, sólo un 70.8% de ellas tenían niveles de P4 por encima de 1ng/ml.

En los resultados obtenidos en este estudio se puede observar que en relación a la tasa de preñez con los tratamientos de Heatsynch y Ovsynch respectivamente, no se encontró diferencia significativa (Cuadro 1), a pesar de que numéricamente llegaron más vacas al diagnóstico del grupo de GnRH.

La relación entre los niveles de P4 al inicio de ambos tratamientos y los porcentajes de preñez no tuvo diferencia significativa, considerando que en el estudio no se está tomando el día del ciclo estral en que se encuentran los animales (cuadro 1).

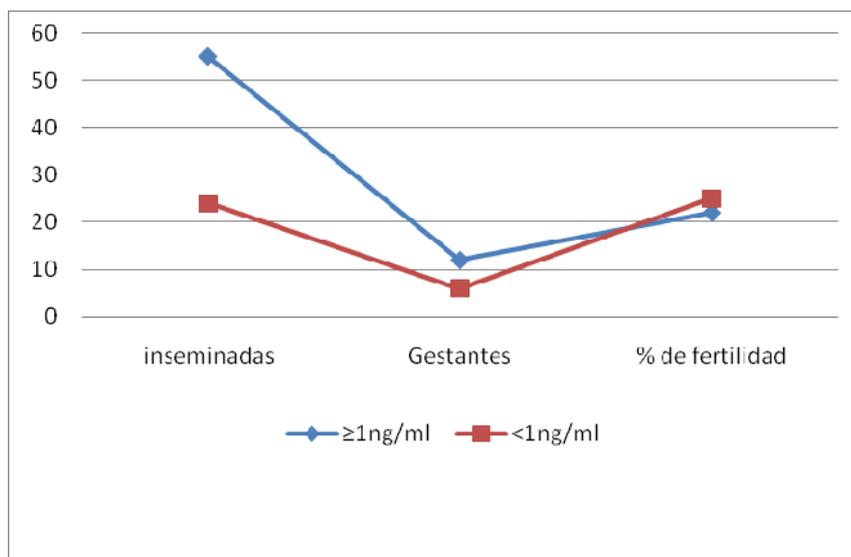


FIG 2.- COMPORTAMIENTO DE LA P4 EN RELACIÓN A LA FERTILIDAD

Al analizar los niveles de P4 en la Fig. 1, no hubo diferencia significativa en los porcentajes de gestación, fueron similares en las hembras con niveles altos y bajos de P4, sin considerar la hormona que fue aplicada posteriormente, donde se puede considerar que las vacas respondieron aceptablemente al tratamiento con PGF2 α o el CL estaba en fase de regresión, como indican Acosta *et al.* (2002).

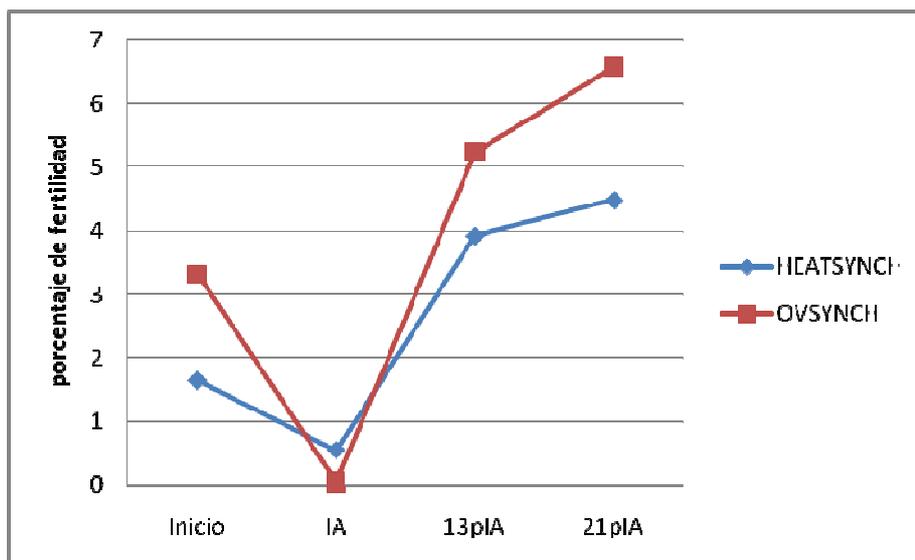


Figura 3.- DINÁMICA DE LA P4 EN VACAS GESTANTES

Los resultados obtenidos coinciden con el reporte de Moreira *et al.* (2000b), quienes encontraron mayores tasa de preñez cuando los niveles de P4 resultaron ser altos al inicio y al séptimo día del Ovsynch (38.4%), sin embargo, en el presente estudio no se administró la primera GnRH del protocolo original, ya que se administró la PGF2 α en la detección del CL y así dicha hormona se encargaría de la regresión de éste, como lo señala Hafez (2003).

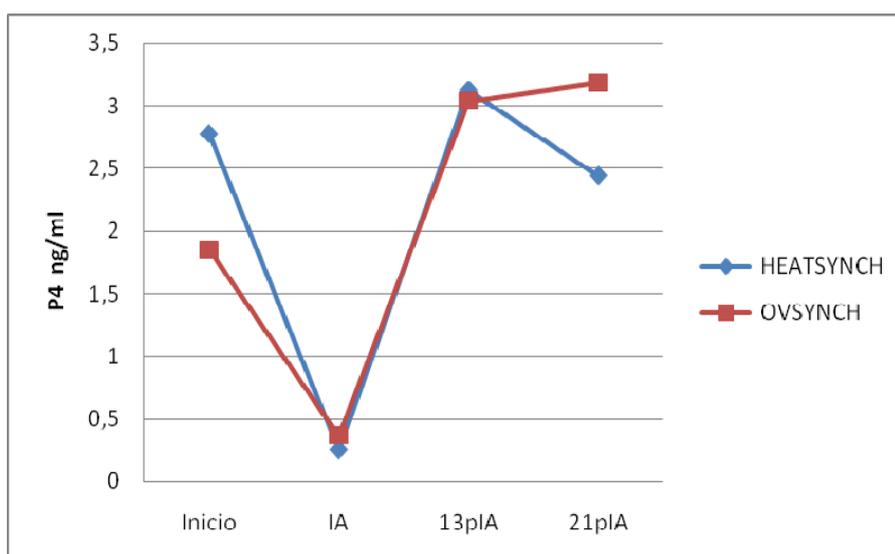


FIGURA 4.- DINÁMICA DE LA P4 EN VACAS VACIAS

Posiblemente las vacas que tuvieron progesterona baja (Fig 2) y un cuerpo lúteo detectado (cuadro 2), ya habían liberado prostaglandina F2 α endógena previamente, y es por esto que las tasas de preñez no se vieron afectadas. Por otro lado el grupo con P4 alta, se logró que esta hormona bajara por la aplicación de la PGF2 α inyectada o por vía exógena (Palmas., 2007)

Cuadro 1.- Tasa de preñez (%) de vacas sincronizadas e inseminadas en ambos protocolos.

Tratamiento	No de Vacas	% Gestación
ECP	39	23
GnRH	40	22.5

Sin embargo, otros estudios realizados por Fricke *et al.* 2003, obtuvieron un 38% de tasa de preñez cuando el protocolo de Ovsynch al inicio de él día 33 después de previa la IA, lo que hace diferir con las tasas de preñez de este estudio, donde no se aplicó la primera inyección de GnRH del protocolo original, coincidiendo con este autor el mismo intervalo de tiempo para realizar la IA, lo que puede indicar que la aplicación de esta hormona puede tener efecto en la fertilidad.

Cuadro 2.- Tasa de preñez (%) en relación con los niveles de P4 al inicio y tomando en cuenta el protocolo perteneciente de las vacas inseminadas.

Grupo	Gestantes	
	$\geq 1\text{ng/ml}$	$< 1\text{ng/ml}$
ECP	(6/30) 20%	(3/9) 33%
GnRH	(6/25) 24%	(3/15) 20%

Cuadro 3.- Tasa de preñez (%) en relación con los niveles de P4 al inicio del protocolo de las hembras sincronizadas e inseminadas, sin considerar el protocolo utilizado.

Nivel de P4	Gestantes
≥1ng/ml	22 % (12/55)
<1ng/ml	25% (6/24)

Los resultados obtenidos concuerdan con los obtenidos por Lucy (2005), donde menciona que los porcentajes en la tasa de preñez fueron similares para el sistema de dos inyecciones (PGF2α + GnRH) y protocolo original de Ovsynch (23.9% y 24.6% respectivamente).

En un estudio realizado por Stevenson *et al.* (2003) donde compararon un grupo tratado sólo con la inyección de PGF2α, el día 27 ó 29 obteniendo un 22% de tasa de preñez contra un grupo (PGF2α+GnRH) iniciando en el mismo intervalo de tiempo, con 23% de tasa de preñez, coincidiendo con las tasas de preñes similares a las encontradas en este estudio.

En un estudio realizado por Peters y Pursley 2002, indican que los niveles de P4 ≥1ng/ml en el día 7 del protocolo que cuando se administra la PGF2α, fue similar para el grupo Ovsynch y Presynch (82.9% y 95.3% respectivamente), de igual forma no obtuvieron diferencia significativa entre grupos en las tasas de gestación de 38.3% para Ovsynch y 41.5% para Presynch.

Los resultados obtenidos contrastan con el reporte de (Moreira *et al.*,2000b), quienes encontraron mayores tasa de preñez cuando los niveles de P4 resultaron ser altos al inicio y al séptimo día del Ovsynch (38.4%), sin embargo, en el presente estudio no se administró la primera GnRH del protocolo original, ya que se administró la PGF2α en la detección del CL y así

dicha hormona se encargaría de la regresión de éste, como lo señala (Hafez.-2003).

Los porcentajes de gestación, fueron similares en las hembras con niveles altos y bajos de P4, sin considerar la hormona que fue aplicada posteriormente, donde se puede considerar que las vacas respondieron aceptablemente al tratamiento con PGF2 α o el CL estaba en fase de regresión, como indican (Acosta *et al.*, 2002).

V CONCLUSIONES.

Después de analizar los resultados obtenidos de nuestra investigación podemos concluir que:

- 1.- En la práctica reproductiva diaria se pueden cometer errores al diagnóstico rectal de estructuras ováricas, pues en nuestro trabajo de todas las vacas diagnosticadas con CL activo para realizar un protocolo de inseminación a tiempo fijo solo el 70.8 % tenían CL activo al momento de iniciar el protocolo lo que podía influenciar en las tasas de fertilidad.
- 2.- Los niveles de P4 al inicio de un protocolo para la inseminación a tiempo fijo no tuvo efecto sobre la fertilidad.
- 3.- El comportamiento de la P4 en caso del protocolo ovsynch, tuvo una tendencia a ser superior a los 21 días que para el heatsynch, aunque su comportamiento general del muestreo fue similar, tanto para vacas vacías y gestantes de ambos esquemas.

VI LITERATURA CITADA

Adams, G. P. 1999. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J. Reproduction Fertil.* 54:17–32.

Arlotto, T., J. L. Schwarts, N. L. First, and M. L. Leibfried-Rutledge. 1996. Aspects of follicle and oocyte stage that affect in vitro maturation and development of bovine oocytes. *Theriogenology* 45:943–956.

Arthur, G., Noakes, D. y Pearson, H., ed. *Reproducción y obstetricia en veterinaria*. 6a. ed., España, Interamericana Mc Graw Hill, 1989: 6-15.

Brevini Gandolfi, T. A. L., and F. Gandolfi. 2001. The maternal legacy to the embryo: Cytoplasmic components and their effects on early development. *Theriogenology* 55:1255–1276.

Bridges, G. A., M. L. Mussard, D. E. Grum, L. A. Helser, C. L. Gasser, D. M. Dauch, J. L. Pate, and M. L. Day. 2006. The influence of preovulatory estradiol concentrations on uterine function in beef cattle. *ASAS Proc. Midwest Sections*. 207

Conover, W. S., and R. L. Inman. 1981. Rank transformation as a bridge between parametric and nonparametric statistics. *Am. Stat.* 35:3.

Butler W. R. 2002 Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows *J. Anim. Sci.* 80(E. Suppl.) 1053-1058

Callejas S. Santiago 2005 Fisiología del ciclo estral bovino

Callejas, S.; Alvarez Castillo, S.; Zarzaso, M. y Cledou, G. 2007. Uso de un dispositivo intravaginal con progesterona en vacas de cría con servicio natural. *Resúmenes 7mo. Simposio Internacional de Reproducción Animal. IRAC. Córdoba.* p. 236.

Cerri, R. L. A., J. E. P. Santos, S. O. Juchem, K. N. Galva, R. C. Chebel. 2004. Timed artificial insemination with estradiol cypionate or insemination at estrus in high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:3704–3715.

Cerri, R. L. A., J. E. P. Santos, S. O. Juchem, K. N. Galva, R. C. Chebel. 2004. Timed artificial insemination with estradiol cypionate or insemination at estrus in high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:3704–3715.

Chebel, R. C., J. E. P. Santos, R. L. A. Cerri, K. N. Galvao, S. O. Juchem, W. W. Thatcher. 2003. Effect of resynchronization with GnRH on day 21 after artificial insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Theriogenology* 60:1389-1399.

Delgadillo, S. J. A. 2005. Inseminación Artificial en Caprinos. Primera ed. Editorial Trillas. 81pp.

García T. L. (2010) Reproducción, Características del ciclo estral

Geary, T. W., J. C. Whittier, and D. G. Lefever. 1998. Effect of calf removal on pregnancy rates of cows synchronized with the Ovsynch or CO-Synch protocol. *J. Anim. Sci.* 81(Suppl.1):278.

Hafez ESE (1996) Reproducción e inseminación artificial en animales 542 pp (Ed Interamericana, 6ta edición).

Hafez, E. S. E., B. Hafez. 2003. Reproducción e inseminación artificial en animales. Séptima ed. Editorial McGraw-Hill. 519pp.

Hafez, E.S.E. 1996. Reproducción e inseminación artificial en animales. 542 p. (Ed. Interamericana, 6ta edición).

Hampton, J. H., B. E. Salfen, J. F. Bader, D. H. Keisler, and H. A. Garverick. 2003. Ovarian follicular responses to high doses pulsatile luteinizing hormone in lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:1963–1969.

Howard, H. J., and J. H. Britt. 1990. Prostaglandin F-2 α causes regression of an hCG-induced corpus luteum before day 5 of its lifespan in cattle. *J. Reprod. Fertil.* 90:245–253.

Hurnik JF (1987) Sexual behavior of female domestic mammals *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* 3, 423-461.

Hurnik, J.E 1987. Sexual behavior of female domestic mammals. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice* 3: 423-461.

Ing, N. H., and M. B. Tornesi. 1997. Estradiol up-regulates estrogen receptor and progesterone receptor gene expression in specific ovine uterine cells. *Biol. Reprod.* 56:1205–1215.

Inskeep, E. K. 2004. preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentration of progesterone on embryonic survival in the cows. *J. Anim. Sci.* 82(E. Suppl.):E24-E39.

Johnson, S. K., and M. L. Day. 2004. Methods to reduce or eliminate detection of estrus in a melengestrol acetate-PGF2 α protocol for synchronization of estrus in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 82:3071–3076.

Keisler, D. H., and L. W. Keisler. 1989. Formation and function of GnRH-induced subnormal corpora lutea in cyclic ewes. *J. Reprod. Fertil.* 87:265–273.

Kirby, C. J., M. F. Smith, D. H. Keisler, and M. C. Lucy. 1997. Follicular function

in lactating dairy cows treated with sustained-release bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.* 80:273–285.

Lamb, G. C., J. E. Larson, T. W. Geary, J. S. Stevenson, S. K. Johnson, M. L. Day, R. P. Ansotegui, D. J. Kesler, J. M. DeJarnette, and D. G. Landblom. 2006. Synchronization of estrus and artificial insemination in replacement beef heifers using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F_{2α}, and progesterone. *J. Anim. Sci.* 84:3000–3009.

Larson, J. E., G. C. Lamb, J. S. Stevenson, S. K. Johnson, M. L. Day, T. W. Geary, D. J. Kesler, J. M. DeJarnette, F. N. Schrick, A. DiCostanzo, and J. D. Arseneau. 2006. Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and timed artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F_{2α}, and progesterone. *J. Anim. Sci.* 84:332–342.

Littell, R. C., P. R. Henry, and C. B. Ammerman. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76:1216–1231.

Lucy, M. C., and J. S. Stevenson. 1986. Gonadotropin-releasing hormone at estrus: Luteinizing hormone, estradiol, and progesterone during the peri-estrus and postinsemination periods in dairy cattle. *Biol. Reprod.* 35:300–311.

Lucy, M. C., J. S. Stevenson, E. P. Call. 1986. Controlling first service and calving interval by prostaglandin F_{2α}, gonadotropin-releasing hormone, and timed insemination. *J. Dairy Sci.* 69 (8): 2186-2194.

Matteri, R. L., J. F. Roser, D. M. Baldwin, V. Lipovetsky, and H. Papkoff. 1987. Characterization of monoclonal antibody which detects luteinizing hormone from diverse mammalian species. *Domest. Anim. Endocrinol.* 4:157–165.

McNatty, K. P. 1979. Follicular determinants of corpus luteum function in the human ovary. *Adv. Exp. Med. Biol.* 112:465–481.

Moore, N. W. 1985. The use of embryo transfer and steroid hormone replacement therapy in the study of prenatal mortality. *Theriogenology* 23:121–128.

Moreira, F., C. Orlandi, C. A. Risco, R. Mattos, F. Lopes, W. W. Thatcher. 2001. Effects of presynchronization rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:1646-1659.

Moreira, F., C. Orlando, C. Risco, F. Lopes, R. Mattos, W. W. Thatcher. 2000a. Pregnancy rates to a timed insemination in lactating dairy cows pre-synchronized and treated with bovine somatotropin: cyclic versus anestrus cows. *J. Dairy Sci.* 83 (Suppl. 1): 134(Abstr).

Moreira, F., R. L. de la Sota, T. Diaz, and W. W. Thatcher. 2000. Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 78:1568–1576.

Murdoch, W. J., and E. A. van Kirk. 1998. Luteal dysfunction in ewes induced to ovulate early in the follicular phase. *Endocrinology* 139:3480–3484.

Perry, G. A., M. F. Smith, A. J. Roberts, M. D. MacNeil, and T. W. Geary. 2007. Relationship between size of ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 85:684–689.

Perry, G. A., M. F. Smith, M. C. Lucy, J. A. Green, T. E. Parks, M. D. MacNeil, A. J. Roberts, and T. W. Geary. 2005. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:5268–5273.

Perry, G. A., T. W. Geary, M. C. Lucy, and M. F. Smith. 2002. Effect of follicle size at time of GnRH-induced ovulation on luteal function and fertility. *Proc. Western Section, ASAS.* 53:45–48.

Price, C. A., and R. Webb. 1988. Steroid control of gonadotrophin secretion and ovarian function in heifers. *Endocrinology* 125:2222–2231.

Pursley, J. R., M. C. Kosorok, M. C. Wiltbank. 1997. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy. Sci.* 80:301-306.

Pursley, J. R., M. C. Wiltbank, J. S. Stevenson, J. S. Ottobre, H. A. Garverick, and L. L. Anderson. 1997. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.* 80:295–300.

Pursley, J. R., M. O. Mee, and M. C. Wiltbank. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology* 44:915–923.

Sartori, R., P. M. Fricke, J. C. P. Ferreira, O. J. Ginther, and M. C. Wiltbank. 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol. Reprod.* 65:1403–1409.

Silcox, R. W., K. L. Powell, and T. E. Kiser. 1993. Ability of dominant follicles (DF) to respond to exogenous GnRH administration is dependent on their stage of development. *J. Anim. Sci.* 71(Suppl. 1):513.

VANE, JR & BOTTING, RM (1994) "Biological properties of cyclooxygenase products" En: *The handbook of immunopharmacology. Lipid mediators.* Chap 3 pp 61-97 Ed. CUNNINGHAM, FM Academic Press. Hartcourt Brace & Company, Publishers.

Vasconcelos, J. L. M., R. Sartori, H. N. Oliveira, J. G. Guenther, and M. C. Wiltbank. 2001. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology* 56:307–314.

WILLIS,AL & SMITH,DL (1994) "Metabolism of Arachidonic Acid: an overview" En: *The handbook of immunopharmacology. Lipid mediators.* Chap 1 pp 1-32 Ed. CUNNINGHAM,FM Academic Press. Hartcourt Brace & Company, Publishers.

Wiltbank M. C., P. M. Fricke, S. Sangsritavong, R. Sartori, and O.J. Ginther. 2000. Mechanisms that prevent and produce double ovulation in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83:2998–3007.

Pursley, J.R., Stevenson, J.S. and Minton, J.E. 1993. Ovarian follicular waves in dairy cows after administration of Gonadotropin-Releasing Hormone at estrus. *J. Dairy Sci.* 76: 2548-2560.

Butler, W. R. D. H. Townson, P. C. Tsang, M. Frajblat, L. C. Griel, Jr, C. J. Johnson, R. A. 2002. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *J. Anim Sci.* 80:1053-1058.

McDowell R E, Wilk J C and Talbott C W 2004 Economic viability of crosses of *Bos taurus* and *Bos indicus* for dairying in warm climates. *Journal of Dairy Science.* 79, 1292-1303. <http://jds.fass.org/cgi/reprint/79/7/1292>

SHORT, R. E., E. M. CONVEY, R. B, STAIGMILLER, R. A. BELLOWS. 1990. Effects of intermittent small-dose injections of GnRH in anestrous postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 53 (Suppl.): 366.

Fricke, P. M. 2004. The implementation and evolution of timed artificial insemination protocols for reproductive management of lactating dairy cows.

www.wisc.edu/dysci/uwex/rep_phys/pubs/ImplementationandEvolutionofTIAprotocols.pdf

Zarco, Q. L. 2005. Relación entre la función del cuerpo lúteo y la mortalidad embrionaria en rumiantes. III simposio nacional de infertilidad en la vaca lechera, Aguascalientes, Aguascalientes, México (13-14 de Oct.) 48-54.

Acosta T. J., N. Yoshizawa, M. Ohtani, A. Miyamoto. 2002. Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F2a injection in the cow. *Biol. Reprod.* 66: 651–658.

Lucy, M. C. 2005. Methods for resynchronizing estrus in cows that are not pregnant after first insemination. III simposio nacional de infertilidad en la vaca lechera, Aguascalientes, Aguascalientes, México (13-14 de Oct.) 35-41.