

**EFFECTO DE LA ECG INYECTADA EN LA PRIMERA O SEGUNDA
INSEMINACIÓN USANDO EL PROTOCOLO OVSYNCH SOBRE LA
TASA DE PREÑEZ EN VACAS HOLSTEIN LACTANTES**

KARLA GUADALUPE GONZÁLEZ GARCÍA

TESIS

Presentada como requisito parcial para
optar al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

**Universidad Autónoma agraria Antonio Narro
Unidad Laguna**

Subdirección de Posgrado



Torreón, Coahuila, México.

Diciembre 2013

Universidad Autónoma agraria Antonio Narro
Unidad Laguna
Dirección de Posgrado

**EFFECTO DE LA ECG INYECTADA EN LA PRIMERA O SEGUNDA
INSEMINACIÓN USANDO EL PROTOCOLO OVSYNCH SOBRE LA TASA DE
PREÑEZ EN VACAS HOLSTEIN LACTANTES**

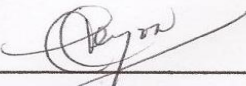

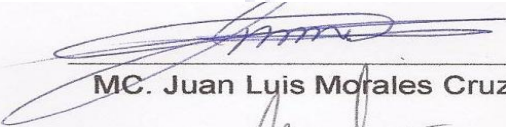
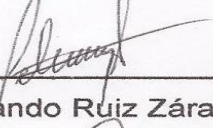
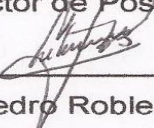
TESIS

KARLA GUADALUPE GONZÁLEZ GARCÍA

Elaborado bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como
requisito parcial para optar al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

Comité particular de asesoría

Asesor principal:	 _____ Dr. Carlos Leyva Orasma
Asesor:	 _____ Dr. Miguel Ángel Meliádo Bosque
Asesor:	 _____ MC. Juan Luis Morales Cruz
	 _____ Dr. Fernando Ruiz Zárate Director de Postgrado
	 _____ Dr. Pedro Robles Trillo Jefe del Departamento de Postgrado UL

Torreón, Coahuila, México.

Diciembre 2013

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna
Dirección de Posgrado

**EFFECTO DE LA ECG INYECTADA EN LA PRIMERA O SEGUNDA
INSEMINACIÓN USANDO EL PROTOCOLO OVSYNCH SOBRE LA TASA DE
PREÑEZ EN VACAS HOLSTEIN LACTANTES**

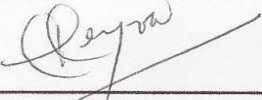
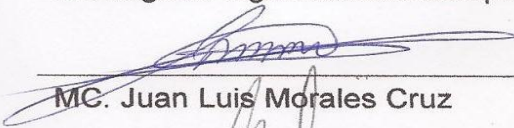
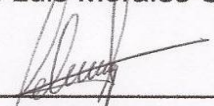
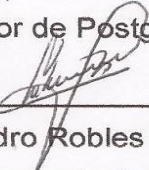
TESIS

KARLA GUADALUPE GONZÁLEZ GARCÍA

Elaborado bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como
requisito parcial para optar al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

Comité particular de asesoría

DIRECTOR:	 _____ Dr. Carlos Leyva Orasma
CO-DIRECTOR:	_____ Dr. Miguel Ángel Mellado Bosque
ASESOR:	 _____ MC. Juan Luis Morales Cruz
	 _____ Dr. Fernando Ruiz Zárate Director de Posgrado
	 _____ Dr. Pedro Robles Trillo Jefe del Departamento de Posgrado UL

DEDICATORIA

A toda mi familia que siempre me ha brindado su apoyo incondicional.

A mis padres

JULIETA GARCÍA VALDEZ Y JOSÉ T. GONZÁLEZ FAVELA

Que siempre me dan la confianza y el apoyo para realizar mis proyectos.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme un logro más en mi vida.

A mis padres y toda mi familia, por su apoyo incondicional

A mis asesores, por la confianza brindada para la realización de esta investigación.

Al personal del establo Beta San Gabriel, por las facilidades prestadas.

A mi “Alma Terra Mater”.

A mis profesores, por brindarme sus conocimientos.

A mis amigos y compañeros, por su apoyo y experiencias vividas. ☺

ÍNDICE

Resumen.....	8
Abstract.....	10
Revisión de literatura.....	12
Métodos de sincronización del celo y la ovulación.....	14
Sincronización de la ovulación para IATF en bovinos.....	15
Métodos para la sincronización del celo en bovinos.....	17
Presynch.....	17
Ovsynch.....	18
Doble ovsynch.....	20
Uso de la eCG en el ovsynch.....	21
Literatura citada.....	24
Artículo.....	31
Abstract.....	31
Resumen.....	32
Introducción.....	33

Materiales y métodos.....	35
Resultados y discusión.....	36
Conclusiones.....	38
Agradecimientos.....	38
Literatura citada.....	39

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Efecto de la eCG inyectada en el primer o segundo servicio, sobre la tasa de preñez en vacas Holstein inducidas a la ovulación con el protocolo ovsynch.	38
Figura 1. Protocolo Presynch.....	17
Figura 2. Protocolo Ovsynch.....	19
Figura 3. Protocolo Doble Ovsynch y Presynch Tradicional.....	20

**EFFECTO DE LA ECG INYECTADA EN LA PRIMERA O SEGUNDA
INSEMINACIÓN USANDO EL PROTOCOLO OVSYNCH SOBRE LA TASA DE
PREÑEZ EN VACAS HOLSTEIN LACTANTES.**

Karla Guadalupe González García

TESIS

Presentada como requisito parcial para
optar al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCION AGROPECUARIA

Asesor:

Dr. Carlos Leyva Orasma

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue valorar el uso de la gonadotropina coriónica equina (eCG) con el protocolo Ovsynch sobre la tasa de preñez en vacas Holstein. Se seleccionaron 200 vacas Holstein lactantes de un establo lechero comercial del norte de México. Éstas se dividieron en 2 grupos (grupo control, n=100 y grupo testigo, n=100). Las vacas fueron tratadas con el protocolo Ovsynch tradicional (d0 GnRh, d7 PgF2 α , d9 GnRh d10 IATF), a las vacas del grupo control se les aplicó 400 UI/IM de eCG el día 7 del protocolo, todos las vacas fueron inseminadas a primer servicio. En la segunda parte del experimento las vacas testigo vacías (n= 48) fueron utilizadas para valorar el efecto de la eCG en un segundo servicio (n= 21) sin eCG (n= 27). Las vacas inyectadas con eCG en la primera parte del experimento y que llegaron vacías al diagnóstico, sirvieron como testigo para las vacías no inyectadas con esta gonadotropina. No se encontraron diferencias

significativas en las tasas de preñez, (21 vs. 17%) y (23.8 vs. 40.7%) para primer y segundos servicios, respectivamente, aunque hubo una tendencia en la segunda parte del experimento a una mayor tasa de preñez en las vacas no inyectadas con eCG en segundos servicios. Los resultados sugieren que la inyección de eCG en primero o segundo servicio no mejora la tasa de preñez en vacas Holstein lactantes.

Palabras clave: Ovsynch, eCG, tasa de preñez

**EFFECT OF EXOGENOUS ECG DURING THE FIRST OR SECOND
INSEMINATION DURING THE OVSYNCH PROTOCOL ON PREGNANCY RATE
OF LACTATING HOLSTEIN COWS.**

Karla Guadalupe González Garcia

THESIS

Presented as a partial requirement to obtain
the degree of:

MASTER IN AGROPECUARIAN PRODUCTION SCIENCE

Adviser

Dr. Carlos Leyva Orasma

ABSTRACT

The aim of this study was to assess the effect of equine chorionic gonadotropin (eCG) in the ovsynch protocol on pregnancy rate in Holstein cows. Lactating Holstein cows (n= 200) from a commercial dairy herd in northern Mexico were divided into two groups (control, n = 100 and treated n = 100). Cows from both groups were subjected to the Ovsynch protocol. One group received 400 IU of eCG, on day 7 of the Ovsynch; the other group did not received eCG. In the second part of experiment, those cows diagnosed as non-pregnant (n=48), were used to evaluate the effect of a second Ovsynch protocol with (n=21) and without (n=27) application of eCG. No significant differences in pregnancy rates were found (21 vs. 17%) and (23.8 vs. 40.7%) for first and second services, respectively,

although there was a trend in the second part of the experiment for a higher pregnancy rate in cows not injected with eCG on second service. Results suggest that injection of eCG in the first or second service does not improve the pregnancy rate in lactating Holstein cows treated with the ovsynch protocol.

Key words: Ovsynch, eCG, pregnancy rate.

EFFECTO DE LA ECG INYECTADA EN LA PRIMERA O SEGUNDA INSEMINACIÓN USANDO EL PROTOCOLO OVSYNCH SOBRE LA TASA DE PREÑEZ EN VACAS HOLSTEIN LACTANTES.

REVISIÓN DE LITERATURA

La falla en la concepción o infertilidad es el problema reproductivo más importante en los hatos lecheros intensivos (Walsh et al., 2011). En Estados Unidos se ha observado una clara reducción del porcentaje de concepción en los últimos 40 años; así en 1951, se lograba preñar 65% de las vacas servidas mientras que en 2000 se obtiene menos de 40% (Lucy, 2001; Paul, 2003). En México ha ocurrido algo similar, hace 30 años más de 50% de las vacas servidas quedaban gestantes y actualmente es menor de 40%. (Callejas, 2004, Mellado et al., 2013).

La mayoría de los análisis económicos han demostrado que las vacas anovulatorias pueden reducir la rentabilidad de la explotación debido a un mayor porcentaje de vacas de desecho y a un incremento en las inseminaciones por concepción; de esta manera, es probable que el tratamiento oportuno y eficaz de las vacas anovulatorias, mejore la eficacia reproductiva y aumente la rentabilidad de las explotaciones (Wiltbank y Pursley, 2013).

La vaca es poliéstrica anual y cada ciclo dura entre 17 y 23 días, el celo entre 6 y 18 hrs, y la ovulación tiene lugar entre 24 y 30 hrs después de comenzado el celo. Después de la ovulación el cuerpo lúteo (CL) se desarrolla y la concentración plasmática de progesterona aumenta entre el día 4 y 12 del ciclo para permanecer constante hasta la luteolisis, que comienza entre los días 16 a 19 (Mapletoft et al.,

1999; Aerts y Bols, 2010). En los últimos 20 años, se logró una mejor comprensión de la fisiología reproductiva en el ganado vacuno, particularmente relacionado a la función ovárica, debido al uso de la ecografía y el desarrollo de ensayos hormonales más exactos (Peter et al., 2009; Sartori y Barros, 2011).

El ciclo estral representa un patrón cíclico de actividad ovárica que permite a las vacas ir de un periodo reproductivo de no receptividad a uno de receptividad permitiendo establecer el apareamiento y el subsecuente establecimiento de la gestación (Forde et al., 2011). El inicio del ciclo estral ocurre al momento de la pubertad, en donde la hembra bovina entra a un periodo de ciclicidad reproductiva que continua a través de toda su vida, a excepción del periodo de gestación o de balance energético negativo, en el cual prevalece el anestro (Peter et al., 2009; Sartori y Barros, 2011).

Diferentes estrategias terapéuticas han sido experimentadas para inducir cuerpos lúteos accesorios, incrementar niveles de progesterona, reducir crecimiento folicular y niveles de estrógeno durante la formación embrionaria temprana y tardía (Bartolome et al., 2005; Ferreira et al., 2013). Las investigaciones del control hormonal del ciclo estral, han mejorado la base del conocimiento para el desarrollo de los programas de sincronización y han posibilitado una estrecha sincronía entre el celo y la ovulación (MacMillan, 2010; Cutaia y Bó, 2011).

MÉTODOS DE SINCRONIZACIÓN DEL CELO Y LA OVULACIÓN

El desarrollo de métodos de sincronización de celos en bovinos con la manipulación del ciclo estral que permitan la utilización de forma eficiente a la inseminación artificial, ha constituido un desafío para la Medicina Veterinaria (Becaluba, 2006). La sincronización de los celos y las ovulaciones a través de tratamientos hormonales permite controlar las ondas de desarrollo folicular del ovario, con lo cual se puede inseminar una gran cantidad de vacas, concentradas en el mismo horario y así obtener índices de preñez idénticos a los obtenidos con celo natural. Con la aplicación de esta técnica se ha logrado un avance muy importante para la inseminación artificial (MacMillan, 2010).

La inseminación artificial (IA) ha demostrado su gran aporte para el mejoramiento genético en la ganadería lechera, esta técnica mejora los índices de producción lechera en diferentes partes del mundo (Huanca, 2001). Sin embargo, Huanca (2001) y Sepúlveda (2003) indican que aún subsisten algunos factores que atentan contra una mejor eficiencia de la técnica y entre las que se pueden mencionar las dificultades y deficiencias en la detección de celos, lo que confirman Sartori y Barros (2011), en un estudio donde observaron una mayor incidencia de celos nocturnos.

SINCRONIZACIÓN DE LA OVULACIÓN PARA LA IATF EN BOVINOS

La sincronización de la ovulación por métodos hormonales en bovinos ha presentado resultados alentadores para el empleo de la I.A. a tiempo fijo (Thatcher et al., 1993; Gumen et al., 2003).

Huanca (2001) menciona que el avance en el conocimiento de la fisiología reproductiva de los bovinos, especialmente en lo referente a las características del desarrollo folicular ha contribuido al desarrollo de protocolos de IA a tiempo fijo y sus posibilidades de aplicabilidad en nuestras condiciones. Sepúlveda, et. al., (2003) comenta que la utilización de esquemas de sincronización de celos e IA a tiempo fijo en forma práctica en rebaños lecheros sometidos a sistemas de producción intensivos, podría mejorar la eficiencia reproductiva. Ramírez et. al, (2005) dice que la aplicación de esta técnica permite realizar la inseminación artificial (I.A.) a tiempo fijo sin la necesidad de observar los celos, para poder optimización del uso de biotecnologías reproductivas como la I.A., transferencia de embriones y monta dirigida.

En las décadas pasadas se desarrollaron protocolos de manejo reproductivo que sincroniza la presencia del estro usando PGF2 α , estos protocolos no controlan el momento de IA y por lo general en las vacas lechera las tasas de preñez son demasiadas bajas después de la detección del estro (Lucy y Stevenson, 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 de sincronización para que las vacas puedan ser inseminadas sin que éstas manifiesten celos (Moreira, 2000).

Para obtener una máxima fertilidad en los esquemas de IA a tiempo fijo es necesario controlar el CL, el desarrollo folicular y la ovulación. Para controlar la fase luteal se puede inducir la regresión del CL con PGF α , o prolongarla mediante dispositivos con liberación lenta de progestágenos. Para controlar el desarrollo folicular se puede utilizar GnRH o estrógenos más progestágenos (Bó y Tegli, 2005).

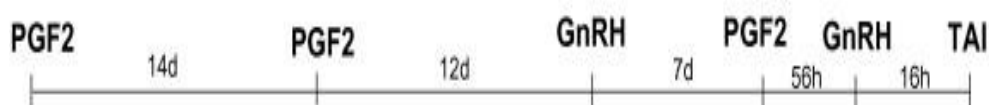
MÉTODOS PARA LA SINCRONIZACIÓN DE CELOS EN BOVINOS

Presynch

Este protocolo incluye dos dosis de PGF2 α a intervalos de 14 días e inicio del Ovsynch a los 12 días de la segunda dosis (Khalloub et al., 2008). Dicho protocolo mejora las tasas de preñez cuando se compara con el Ovsynch sin presincronización. Es importante mantener el intervalo de 12 días entre la segunda dosis de PGF2 α del Presynch y la primera GnRH del Ovsynch, ya que utilizar 14 días para facilitar el uso calendario podría disminuir el porcentaje de preñez (Galvao, 2007).

Con la segunda inyección de PGF α 12 días antes de la iniciación de la primera inyección de GnRH de Ovsynch. Presynch mejora la primera concepción de servicio comparado con Ovsynch (Bó et al., 2008), y es una buena estrategia para las vacas de programación para recibir su primera IA programada después del parto.

Figura 1. Protocolo Presynch



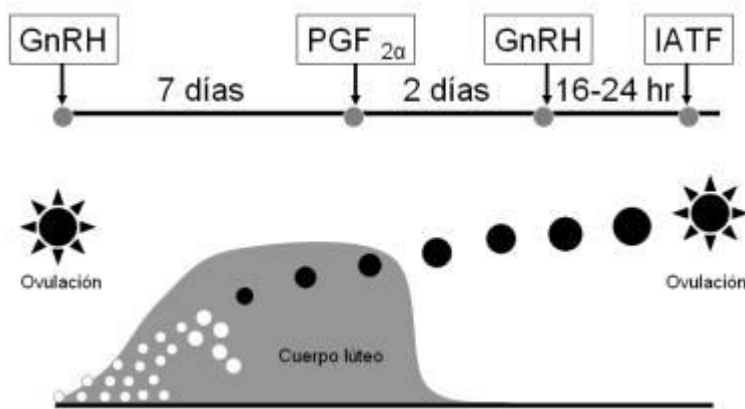
Protocolo Presynch. (Sauza, 2008)

Ovsynch

Fue desarrollado por Pursley en 1995. Este protocolo consiste que la primera inyección de GnRH en el día 0 induce la liberación de LH y FSH que a su vez producen la ovulación o luteinización del folículo dominante (FD) e inician una nueva onda de crecimiento folicular. La inyección de PGF2 α 7 días más tarde produce la regresión del CL. Si se produce la formación de un CL por la inyección inicial de GnRH, el intervalo de 7 días usualmente es suficiente para madurar y responder a la PGF2 α (Pursley et al., 1995). Una segunda dosis de GnRH se administra 48 horas después de la inyección de PGF2 α y esta causa la liberación de LH y la ovulación del folículo dominante (FD). El intervalo entre la primera y la segunda dosis de GnRH (9 días) es suficiente para producir el reclutamiento, selección y crecimiento al tamaño preovulatorio de un nuevo FD que será sensible a la onda de LH inducida por la segunda inyección de GnRH. La GnRH inducirá la ovulación del FD en aproximadamente 30 h, por lo tanto las vacas son IATF (sin detección de celo) 16 a 20 horas después de la segunda inyección de GnRH (aproximadamente 10 a 14 h antes de la ovulación (Pursley et al., 1997). Los resultados con Ovsynch indican que todas las vacas vacías podrían ingresar al protocolo sin importar su fase del ciclo estral (Moreira et al., 2000). Este protocolo se ha utilizado ampliamente, recientemente se han probado diferentes variaciones en los tiempos de administración de las hormonas y la IA, sin la necesidad de observar el estro, facilitando el manejo y optimizando el empleo de esta biotecnología a campo (Kisur et al., 2003). El protocolo Ovsynch ha demostrado incrementar la tasa de servicio y mejorar la eficiencia reproductiva en hatos lecheros. Sin embargo, este protocolo tiene algunas limitaciones cuando se usa en

vacas que no están ciclando o en vacas que no están en una fase apropiada del ciclo estral para iniciar el tratamiento (Pursley y João, 2011). Para aumentar 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 vacías al diagnóstico de gestación, deben ser inseminadas lo más pronto posible (Chabel et. al., 2003).

Figura 2. Protocolo Ovsynch

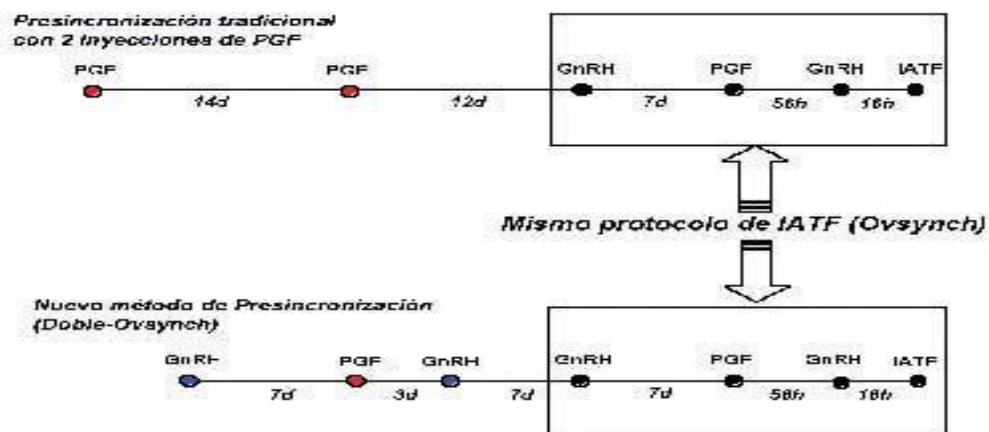


Protocolo Ovsynch. (Cigal, 2012).

Doble Ovsynch

Este protocolo ha demostrado prometedores resultados para el aumento de la fertilidad cuando precede al protocolo Ovsynch en vacas lecheras en producción. Fue desarrollado en el laboratorio del Dr. Milo Wiltbank en la Universidad de Wisconsin (Souza et al., 2008) El Ovsynch ha demostrado incrementar la tasa de servicio y mejorar la eficiencia reproductiva en hatos lecheros. A pesar de ello, Ovsynch tiene algunas limitaciones cuando se usa en vacas que no están ciclando o en vacas que no están en una fase apropiada del ciclo estral para iniciar el tratamiento, y por otro lado diferentes estudios mencionan que la Presincronización regular con dos inyecciones de prostaglandinas no es efectiva. (Souza et al., 2008). Para ello se desarrolló el programa Doble Ovsynch para superar estas limitaciones de la Presincronización convencional, su nombre tiene origen en que el programa Ovsynch es usado durante el periodo de Presincronización en lugar de las dos inyecciones de PgF2 α (Souza et al., 2008).

Figura 3. Protocolo Doble Ovsynch y Presynch tradicional.



Doble-Ovsynch y Presynch tradicional (adaptado de Souza et al., 2008).

USO DE LA ECG EN EL OVSYNCH

La eCG antes conocida como Gonadotropina Sérica de Yegua Preñada (PMSG) es una hormona glicoproteica producida por los cálices endometriales en la yegua preñada entre los días 40 a 130 (Bousfield y Butnev, 2001). Se compone de dos subunidades α -y β (la subunidad α está codificada por un gen común en todas las glicoproteínas, mientras que estas hormonas difieren en el gen que codifica para subunidad β -, la cual confiere la especificidad hormonal (Palma, 2008). Contiene un alto contenido de carbohidratos, especialmente ácido siálico, lo que parece ser responsable de una vida media larga de varios días para la eCG. Por lo tanto, una sola inyección de eCG tiene efectos biológicos en la glándula blancos por más de una semana (Cutaia, 2010). Tiene una vida media de 40 h y dura en la circulación durante diez días, en bovinos tiene una vida media de 5 a 7 días aproximadamente, existiendo una primera fase de eliminación rápida durante las primeras 36 horas (Ungerfeld, 1998).

Esta hormona se vincula a los receptores foliculares de FSH y de LH, y a los receptores de LH del CL, creando de esta forma condiciones de crecimiento folicular, ovulación y luteinización (Baruselli et al., 2003); pero su acción predominante es de FSH, lo que daría a lugar a la formación de cuerpos lúteos accesorios característicos de la yegua gestante (Fuentes y de la Fuente, 2007). La aplicación de eCG en el momento esperado de una nueva onda de crecimiento folicular, ha demostrado eficiencia en cuanto a superovulación y/o desarrollo de un

folículo dominante de mayor diámetro, determinando de esta forma un mayor número de cuerpos lúteos o un CL grande (Baruselli et al., 2005).

La eCG estimula el crecimiento folicular a través de su acción de FSH y LH, aumenta el tamaño de folículo, también incrementa las concentraciones plasmáticas de progesterona, mejorando así el desarrollo embrionario y el mantenimiento de preñez. La eCG funciona con un inductor de la liberación de LH. Por inducir crecimiento folicular, liberación de LH y superovulación ha sido utilizada intensivamente en la especie ovina y bovina (Hafez et al., 2002).

La eCG administrada algunas horas previas a la ovulación estimula el crecimiento folicular a través de su acción de FSH y LH, aumenta el tamaño del folículo preovulatorio, incrementa las concentraciones plasmáticas de progesterona luego de la ovulación, mejorando así el desarrollo embrionario y el mantenimiento de la preñez. (Bartolomé et al., 2012). Sin embargo, Martínez et al. (2005) menciona que durante períodos prolongados estimula el crecimiento folicular, lo que conlleva a mayor producción de estrógenos durante períodos más extensos que las vacas superovulada, lo cual puede provocar la luteinización de los folículos en el momento del celo y afecta el proceso de ovulación, es necesario modificar el horario y la dosis de administración de la eCG, se cree que suministrando el eCG entre 48 y 60 horas antes del celo y reduciendo la dosis a media nos acercamos al celo se puede obtener mejores resultados (Becaluba, 2007). Entonces la prolongada vida media de la eCG provoca algunos problemas originados por la permanente estimulación ovárica como folículos que no ovulan, perfiles

endócrinos anormales (altos niveles de estrógenos) y embriones de mala calidad. González et al. (2002) menciona que la valoración del efecto de la presencia de un folículo dominante en el comienzo de tratamientos de superovulación con una dosis única de eCG señala la existencia de un posible efecto limitante de dicho folículo sobre la respuesta al tratamiento, esto coincide con el hecho de que la eliminación de los folículos mayores de 4 mm presentes en el ovario al inicio del tratamiento induce un mayor número de ovulaciones. Páez et al. (2005) menciona también que la gonadotropina coriónica equina (eCG) se ha integrado a los protocolos de sincronización e inducción del estro con progestágenos, se propone que esta hormona favorece el desarrollo folicular, la ovulación y la fertilidad, en los cuales se sugiere que esta hormona mejora la respuesta a través del efecto en el desarrollo folicular. La administración eCG durante la sincronización del estro con progestágenos provoca atresia y recambio folicular. Sin embargo, este efecto depende de la etapa de desarrollo del folículo dominante al momento del tratamiento.

LITERATURA CITADA

Aerts, J., Bols, P. 2010. Ovarian Follicular Dynamics. A review with Emphasis on the Bovine Species. Part II: Antral Development, Exogenous Influence and Future Prospects. *Reproduction in Domestic Animals*, 45: 180–187.

Bartolome, J. A., Pérez, S., De la Sota, R. L. Thatcher, W. W. 2012. The effect of administering equine chorionic gonadotropin (eCG) and human chorionic gonadotropin (hCG) post artificial insemination on fertility of lactating Dairy cows. *Theriogenology*. 20.30.

Bartolome J. A., Melendez P., Kelbert D., Swift K., MhHale J., Hernández J., Silvestre F., Risco C.A., Arteché A.C.M., Thatcher W.W., Archbald L.F. 2005, Strategic use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. *Theriogenology*; 63:1026-1037.

Baruselli, P., Bó, G., Reis, E., Márquez, M., Sá, M. 2005. Introducción de la IATF con el manejo reproductivo de rebaños de ganado de engorde en Brasil. Congreso internacional de reproducción bovina. Bogotá.

Baruselli P, Marques O, Nasser LF, Reis EL and Bó G. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR–B devices for timed artificial insemination. *Theriogenology*. 2003. 59: 214.

Becaluba F., 2006, Métodos De Sincronización De Celos En Bovinos. Especialista en Reproducción, Bs. As. www.produccion-animal.com.ar

Bó, G. A., Tegli, J. C. 2005. Sincronización de celos e inseminación a tiempo fijo en ganado de carne. Asociación Braford Argentina, Instituto de Reproducción

Animal Córdoba y Universidad Católica de Córdoba. www.produccion-animal.com.ar

Bó, G. A., Cutaia L., Souza A. H., Baruselli. P. S. 2008. Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche. 3° Simposio Internacional de Reproducción Animal Aplicada. Córdoba: 96-97.

Bousfield, G.R., Butnev, V.Y. 2001. Identification of 12 O-glycosylation sites in eLH and eCG alpha subunits by solid-phase Edman degradation. Biol. Reprod. 64: 136-147.

Calleja, S., 2004. Control Farmacológico Del Ciclo Estral Bovino: Bases Fisiológicas, Protocolos Y Resultados. Taurus, Bs. As., 6(24):22-34. *Med. Vet. MSC. Prof. Adjunto Fisiología de la Reproducción y de Obstetricia e I. A., FCV UNCPBA, Tandil. www.produccion-animal.com.ar

Chabel, R. C., Santos, J. E., Cerri, R. L., Glavao K. N. Juchem, S.O., Thatcher W. W. 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.

Cutaia L, Gabriel Bó. 2011. Uso de la eCG asociado a programas reproductivos en vacas lecheras. I Simposio Latinoamericano de Reproducción Animal. Noviembre, Viña del Mar, Chile. 137-147.

Cutaia, L., 2010. Nuevos tratamientos para disminuir la mortalidad embrionaria en vacas de carne y leche. IV Simposio internacional de reproducción animal aplicada. Córdoba, Argentina. p. 157-162.

Ferreira, R. M., Ayres, H., Sales, J. N. S., Souza, A. H., Rodríguez, C. A., Baruselli, P. S. 2013. Effect of different doses of equine chorionic gonadotropin on

follicular and luteal dynamics and P/AI of high-producing Holstein cows. *Anim Reprod Sci.* 140, 26–33.

Forde, N., Beltman, M., Lonergan, P., Diskin, M., Roche, J., Crowe, M. 2011. Oestrus cycles in *Bos Taurus* cattle. *Animal Reproduction Science*, 124, 163-169.

Fuentes, S., De la Fuente J., 2007. Tasas de gestación en novillas receptoras sincronizadas con gonadotropina corionica equina u hormona folículo estimulante. *Acta Scientiae Veterinariae.* 35 (Supl. 3): s 767 – s 772.

Galvao, K.N., SaFilho, M.E, Santos, J.E.P. 2007. Reducing the interval from presynchronization to initiation of timed artificial insemination improves fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90: 4212-4218.

González, A., Bulnes, J., Moreno, R. M., Cocero M. J., López, A., 2002. Patrones y mecanismos de control del desarrollo folicular durante la administración de protocolos superovulatorios en pequeños rumiantes. (revisión) *Investigación Agropecuaria. Producción Sanidad Animal.* Vol. 17 p. 1-2.

Gumen A, Guenther JN, Wiltbank MC. 2003. Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 86, 3184-3194.

Hafez, E. S., Hafez, B. 2002. Reproducción e inseminación artificial en animales. Sexta edición. Editorial interamericana Mc Graw-Hill p. 45.

Huanca, L., W., 2001. Inseminación artificial a tiempo fijo en vacas lecheras. *Rev. Investig. vet. Perú.* jul. /dic. 2001, vol.12, no.2, p.161-163.

Khalloub, P. D. y Bartolomé, J. A. 2008. Evaluación de diferentes protocolos de Presincronización en un rodeo lechero con servicio estacional. Vol. 10(39):pp30-35.

Kizur, A., Pellerano, G. S. Maldonado, Pablo R. Sebastián C., 2003. Eficiencia en el uso del protocolo de sincronización "Ovsynch" con resincronización en Búfalos en el NEA Argentino. Resumen: V-041.

Lucy, M.C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle. J. Dairy Sci; 84:1277-1293.

Lucy, M. C., Stevenson J. S., Call E, P., 1986. Controlling first service and calving interval by prostaglandin F2 alpha, gonadotropin-releasing hormone, and timed insemination, J Dairy Sci. 69(8): 2186-2194.

MacMillan, K. 2010. Recent Advances in the Synchronization of Estrus and Ovulation in Dairy Cows. Journal of Reproduction and Development 56, S42-S47.

Mapletoft R., Bo G., Martínez M., Colazo M., Caccia M., Adams G. 1999. Control del desarrollo folicular y su uso en programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado de carne. III Simposio Internacional de Reproducción Animal, 51-69.

Mellado, M, Sepúlveda, E, Mesa-Herrera, C Veliz, FG, Arevalo, J.R, Mellado, J., De Santiago, A.. 2013. Effects of heat stress on reproductive efficiency of high yielding Holstein cows in a hot-arid environment. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 26, 192-200.

Moreira, F., Orlando C., Risco C., López F., Mattos R., Thatcher W. W. 2000. 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(supple. 1): 134.

Moreira, F., De la Sota R. L., Díaz T., Thatcher W. W. 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.

Páez, R., Hernández, J., Sabarre, A., Gutiérrez, C.G. 2005. Effect of acute treatment with norgestomet on the follicular dynamic in f1 Zebu x Holstein cows synchronized with norgestomet implants and eCG. P. 2-7.

Palma, G., 2008. *Biología de la reproducción*. Tercera Edición. Instituto nacional de tecnología agropecuaria – INTA. Argentina. P 693.

Paul, M. F., Taurus, Bs. As. 2003. La ecuación de la reproducción en los rodeos lecheros. Assistant Professor of Dairy Science at the University of Wisconsin-Madison, USA. Conferencia dictada en las 19ª Conferencias Técnicas sobre Inseminación Artificial y Reproducción de la NAAB, Milwaukee, Wisconsin, EE.UU. 23 y 24 de agosto de 2002. 5(20):8-14. www.produccion-animal.com.ar

Peter, A.T., Vos, P.L.A.M., Ambrose, D.J. 2009. Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology* 71, 1333–1342.

Pursley, J. R. Y João Paulo Martins. 2011. incrementando la fertilidad de vacas lecheras en lactancia. vol.16: pp 2.

Pursley, J.R., Mee, M.D., Wiltbank, M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 and GnRH. *Theriogenology* 44: 915 – 923.

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

Ramírez, J. F., Maruland J. D. 2005, Evaluación del protocolo (Ovsynch) de inseminación artificial a tiempo fijo y diagnóstico temprano de gestación en Búfalas de agua (*Babalus bubalis*) durante la estación productiva 2005, Semilleros de investigación sobre búfalas, Centro de Investigación y Desarrollo; Universidad Católica de oriente zootecnista, Colombia.

Sartori, R, Barros C. 2011. Reproductive cycles in *Bos Indicus* cattle. *Animal Reproduction Science*, 124, 244–250.

Sepúlveda, N. 2003. Dairy Cow Fertility Associated with Estrus Synchronization and Artificial Insemination at Fixed Times Using GnRH and PGF2. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XIII, Nº 3, 182-186, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Facultad de Medicina, CEBIOR, Universidad de Córdoba, España*

Souza, A .H. Ayres, R.M. Ferreira, M.C. Wiltbank. 2008. A new presynchronization system (double-ovsynch) increases fertility at first postpartum timed ai in lactating dairy cows. *Theriogenology* 70: 208–215.

Thatcher, W. W., Drost, M., Savio, J.D. 1993. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 33, p. 27-49.

Ungerfeld, R., 1998. Gonadotropina Corionica Equina: Caracterización y utilización. Department of clinical Chemistry faculty of Veterinany Medicine center for Reproductive Biology Swedish University of Agricultural Sciences. P. 15.

Walsh, SW, Williams, EJ, Evans, ACO. 2011. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 123, 127-138.

Wiltbank, MC, Pursley, JR. 2013. The Cow as an Induced Ovulator: Timed AI after Synchronization of Ovulation Theriogenology, available on line ahead of print.

EFFECTO DE LA ECG INYECTADA EN LA PRIMERA O SEGUNDA INSEMINACIÓN USANDO EL PROTOCOLO OVSYNCH SOBRE LA TASA DE PREÑEZ EN VACAS HOLSTEIN LACTANTES

KG González-García*¹, C Leyva¹, JL Morales¹ CA Cancino¹, M Mellado²,
FG Veliz ¹

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Torreón Coahuila, México, ²
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo Coahuila, México.

ABSTRACT

The aim of this study was to assess the effect of equine chorionic gonadotropin (eCG) in the ovsynch protocol on pregnancy rate in Holstein cows. Lactating Holstein cows (n= 200) from a commercial dairy herd in northern Mexico were divided into two groups (control, n = 100 and treated n = 100). Cows from both groups were subjected to the Ovsynch protocol. One group received 400 IU of eCG, on day 7 of the Ovsynch, the other group did not received eCG. In the second part of experiment, those cows diagnosed as non-pregnant (n=48), were used to evaluate the effect of a second Ovsynch protocol with (n=21) and without (n=27) application of eCG. No significant differences in pregnancy rates were found (21 vs. 17%) and (23.8 vs. 40.7%) for first and second services, respectively, although there was a trend in the second part of the experiment for a higher pregnancy rate in cows not injected with eCG on second service. Results suggest that injection of eCG in the first or second service does not improve the pregnancy rate in lactating Holstein cows treated with the ovsynch protocol.

Key words: Ovsynch, eCG, pregnancy rate.

RESUMEN

El objetivo fue valorar la gonadotropina coriónica equina (eCG) en el protocolo Ovsynch sobre la tasa de preñez en vacas Holstein. Se seleccionaron 200 vacas Holstein lactantes de un establo lechero comercial del norte de México. Se dividieron en 2 grupos (control, n=100 y tratamiento, n=100). Todas las vacas fueron tratadas con el Ovsynch tradicional, al grupo tratado se le aplicó 400 UI/IM de eCG el día 7 del Ovsynch. En la segunda parte del experimento las vacas testigo vacías (n= 48) fueron utilizadas para valorar el efecto de la eCG en un segundo servicio (n= 21) sin eCG (n= 27). Las vacas inyectadas con eCG en la primera parte del experimento y que llegaron vacías al diagnóstico, sirvieron como testigo para las vacías no inyectadas con esta gonadotropina. No se encontraron diferencias significativas en las tasas de preñez, (21 vs. 17%) y (23.8 vs. 40.7%) para primer y segundos servicios, respectivamente, aunque hubo una tendencia en la segunda parte del experimento a una mayor tasa de preñez en las vacas no inyectadas con eCG. Los resultados sugieren que la eCG en primero o segundo servicio no mejora la tasa de preñez en vacas Holstein lactantes.

Palabras clave: Ovsynch, eCG, tasa de preñez

INTRODUCCIÓN

La falla en la preñez es el problema reproductivo más importante en los hatos lecheros intensivos (Walsh et al., 2011). En México, hace 30 años en las explotaciones lecheras intensivas más de 50% de las vacas inseminadas quedaban gestantes y actualmente es menor de 40% (Callejas, 2004; Mellado et al., 2013). Un aumento considerable en la producción de leche ha llevado a la reducción en las tasas de preñez (Lucy, 2001). Se ha documentado que las vacas anovulatorias pueden reducir la rentabilidad de la explotación debido a un mayor porcentaje de animales de desecho y a un incremento en las inseminaciones por preñez; de esta manera, es probable que el tratamiento oportuno y eficaz de las vacas anovulatorias mejore la eficacia reproductiva y aumente la rentabilidad de las explotaciones (De Vries, 2006). En los últimos 20 años, se logró una mejor comprensión de la fisiología reproductiva en el ganado vacuno, particularmente relacionado a la función ovárica, debido al uso de la ecografía y el desarrollo de ensayos hormonales más exactos (Sartori y Barros, 2011).

Diferentes estrategias terapéuticas han sido experimentadas para inducir cuerpos lúteos accesorios, incrementar niveles de progesterona, reducir crecimiento folicular y niveles de estrógeno durante la formación embrionaria temprana y tardía (Bartolome et al., 2005). Las investigaciones del control hormonal del ciclo estral han mejorado el conocimiento para el desarrollo de los programas de sincronización y han posibilitado una estrecha sincronía entre el celo y la ovulación (Cutaia y Bó, 2011). La sincronización de los celos y las ovulaciones a través de

tratamientos permite controlar las ondas de desarrollo folicular del ovario, con lo cual se puede inseminar una gran cantidad de vacas, concentradas en el mismo horario y así obtener índices de preñez idénticos a los obtenidos con celo natural.

En las décadas pasadas se desarrollaron protocolos usando PGF₂, estos protocolos no controlan el momento de la inseminación artificial (IA) y por lo general, en las vacas lechera las tasas de preñez eran demasiado bajas después de la detección del 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). Ahora se han ideado programas de sincronización para que las vacas puedan ser inseminadas sin detección de celos (Moreira et al., 2000).

Para obtener una máxima fertilidad en los esquemas de inseminación artificial a tiempo fijo es necesario controlar el cuerpo lúteo, el desarrollo folicular y la ovulación (Wiltbank y Pursley, 2013). Para controlar la fase luteal se puede inducir la regresión del cuerpo lúteo con PgF₂, o prolongarla mediante dispositivos con liberación lenta de progestágenos. Para controlar el desarrollo folicular se puede utilizar GnRH o estrógenos más progestágenos (Bó y Tegli, 2005). Páez et al. (2005) mencionan que eCG se ha integrado a los protocolos de sincronización, ya que se propone que esta hormona favorece el desarrollo folicular, la ovulación y la fertilidad. Sin embargo, este efecto depende de la etapa de desarrollo del folículo dominante al momento del tratamiento. El objetivo del presente estudio fue valorar

el efecto de la aplicación de eCG en un primer y segundo servicio en el protocolo Ovsynch sobre la tasa de preñez en vacas Holstein lactantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo en un establo lechero comercial del norte de México (26°N). Se utilizaron 200 vacas Holstein de entre 2 y 4 partos y 50 a 60 días postparto. La alimentación se proporcionó cuatro veces al día en forma de ración integral, con relación forraje-concentrado de 40:60, con agua a libre acceso y una mezcla de sales minerales en materia seca (0.93 Ca y 0.33 P). Las vacas eran ordeñadas tres veces por día y la producción de leche por lactancia de 305 días era de alrededor de 10,000 kg. Las vacas fueron pre sincronizadas con dos inyecciones de PgF₂α con intervalo de 14 días. Las vacas se dividieron en dos grupos con 100 vacas seleccionadas éstas aleatoriamente. Al inicio del tratamiento se les realizó un examen ginecológico para revisar estructuras ováricas (cuerpos lúteos y folículos) y se registró la condición corporal. Al grupo testigo se le aplicó el protocolo Ovsynch tradicional aplicando GnRh (GonasyI®, Syva, León, Guanajuato, México) el día 1 del tratamiento, PGF₂α en el día 7, a las 56 hrs la segunda GnRh e inseminación a tiempo fijo al día siguiente; el grupo con eCG inició con Ovsynch y una aplicación de 400 UI de eCG (Folligon®; Intervet, México DF, México) el día 7 del protocolo aplicado por vía intramuscular e inseminadas a tiempo fijo. El diagnóstico de preñez se realizó por palpación rectal a los 39 días postinseminación. Es importante mencionar que se aplicó GnRh el día 32 postinseminación a ambos grupos de vacas. Siete días después del

diagnóstico de preñez a las vacas no gestantes se les aplicó PGF2_α, para ser resincronizadas, en este caso las vacas que fueron asignadas al grupo control al ser diagnosticadas como no gestantes fueron resincronizadas con el protocolo que se les asignó a las del grupo testigo, y las vacas no gestantes del grupo testigo fueron resincronizadas con el Ovsynch más eCG para valorar eCG en un segundo servicio. El análisis estadístico se realizó mediante una prueba de Chi cuadrada mediante el paquete estadístico SYSTAT 10 Evenston (2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al inicio de los tratamientos las vacas presentaron una condición corporal promedio de 3.25, condición aceptable según Ruegg, et al., (1995) quienes clasifican la condición corporal de las vacas Holstein Florida como insatisfactorias (2.5 o 4.0) o satisfactorias (de 3.0 a 3.5), estos autores menciona que Las tasas de concepción son generalmente bajas (42 - 63%) al primer servicio en los extremos de la condición corporal menor a 1.0 y mayor a 4.0 respectivamente.

La eCG administrada algunas horas previas a la ovulación estimula el crecimiento folicular a través de su acción de FSH y LH, aumentando el tamaño del folículo preovulatorio, e incrementando las concentraciones plasmáticas de progesterona luego de la ovulación (Bartolomé et al., 2012). Sin embargo, Martínez et al. (2005) mencionan que durante períodos prolongados estimula el crecimiento folicular, lo que conlleva a mayor producción de estrógenos durante períodos más extensos que las vacas superovuladas, lo cual puede provocar la luteinización de los

folículos en el momento del celo y afecta el proceso de ovulación. Esta situación no ocurrió en este estudio ya que las vacas tratadas no habían sido expuestas a esta gonadotropina. Becaluba (2007) indica que se cree que suministrando eCG entre 48 y 60 horas antes del celo y reduciendo la dosis a medida que se acerca el celo se pueden obtener mejores tasas de preñez.

En el presente estudio con la inyección de 400 UI de eCG en el primer servicio se obtuvo una tasa de preñez por debajo de lo obtenido por Sauza et al. (2009) quienes en un estudio donde utilizaron vacas Holstein, sincronizadas para inseminación artificial aplicando 400 UI de eCG en el día 8 del protocolo ovsynch encontraron porcentajes de preñez de 33.8% frente a 30.9% sin eCG. Igualmente, Pérez-López et al. (2012) en un estudio utilizando 400 UI de eCG obtuvieron una tasa de preñez de 54.28%, porcentajes mayores a los obtenidos en el primer servicio de este estudio. Sin embargo, al segundo servicio con las vacas del grupo control que resultaron vacías al diagnóstico de preñez y formaron parte del grupo testigo en la segunda parte del tratamiento, se obtuvo un 40.7 % de preñez, pero debido al tamaño de las muestras este valor no fue significativo.

Tabla 1. Efecto de la eCG inyectada en el primer o segundo servicio, sobre la tasa de preñez en vacas Holstein inducidas a la ovulación con el protocolo ovsynch.

Grupos	Primer servicio (n)	Tasa de Preñez¹ (%)	Segundo Servicio (n)	Tasa de Preñez¹ (%)
eCG	100	21 ^a	21	23.8 ^a
Testigo	100	17 ^a	27	40.7 ^a

¹Diferencias no son significativas (P>0.05)

CONCLUSIONES

La aplicación de eCG en el día 7 del protocolo Ovsynch en primero o segundo servicio no mejora la tasa de preñez en vacas Holstein lactantes en sistemas intensivos.

AGRADECIMIENTOS

Al establo beta san Gabriel por las facilidades prestadas para la realización de esta investigación., A mis asesores por la confianza brindada y al laboratorio Intervet por los materiales brindados... Gracias

REFERENCIAS

Bartolome, J. A., Pérez, S., De la Sota, R. L., Thatcher, W. W. 2012. The effect of administering equine chorionic gonadotropin (eCG) and human chorionic gonadotropin (hCG) post artificial insemination on fertility of lactating Dairy cows. *Theriogenology*, 78, 1110-1116.

Bartolome, J. A., Melendez, P., Kelbert, D., Swift, K., MhHale, J., Hernández, J., Silvestre, F., Risco, C. A., Arteché, A. C. M., Thatcher, W. W., Archbald, L. F. 2005. Strategic use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. *Theriogenology*, 63, 1026-1037.

Becaluba, F. 2006. Especialista en Reproducción, Bs. As. www.produccion-animal.com.ar

Bó, G. A., Tegli, J. 2005. Sincronización de celos e inseminación a tiempo fijo en ganado de carne., Asociación Braford Argentina, Instituto de Reproducción Animal Córdoba y Universidad Católica de Córdoba. www.produccion-animal.com.ar

Callejas, S. 2004. Control farmacológico del ciclo estral bovino: bases fisiológicas, protocolos y resultados. *Taurus*, Bs. As., 6(24):22-34. *Med. Vet. MSC. Prof. Adjunto Fisiología de la Reproducción y de Obstetricia e I. A., FCV UNCPBA, Tandil. www.produccion-animal.com.ar

Cutaia, L., Gabriel, Bó. 2011. Uso de la eCG asociado a programas reproductivos en vacas lecheras. I Simposio Latinoamericano de Reproducción Animal. Noviembre, Viña del Mar, Chile. pp. 137-147.

De Vries, A., Crane, M. B., Bartolomé, J. A., Meléndez, P., Risco, C. A., Archbald, L. F. 2006. Economic comparison of timed artificial insemination and exogenous progesterone as treatments for ovarian cysts. *J. Dairy Sci.* 89, 3028-3037.

Lucy, M. C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J. Dairy Sci.* 84:1277-93.

Lucy, M. C., Stevenson, J. S., Call, E. P. 1986. Controlling first service and calving interval by praataglandin F2 alpha, gonadotropin-releasing hormone, and timed insemination, *J. Dairy Sci.* 69(8): 2186-2194.

Martínez, B., Escobar, M. J. 2005. Concentración de progesterona en suero sanguíneo y heces de cabras superovuladas con gonadotropina corionica equina. *Veterinaria Zacatecas*; 2: 209-215

Mellado, M., Sepulveda, E., Meza-Herrera, C., Veliz, F.G. Arevalo, J.R., Mellado, J. De Santiago, A. 2013. Effects of heat stress on reproductive efficiency of high yielding Holstein cows in a hot-arid environment. *Rev. Colomb. Cienc. Pecu.* 26, 193-200.

Moreira, F., De la Sota, R. L., Díaz, T., Thatcher W. 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.

Páez, R., Hernández, J., Saharrea, A., Gutiérrez, C.G. 2005. Effect of acute treatment with norgestomet on the follicular dynamic in f1 zebu x Holstein cows synchronized with norgestomet implants and eCG. *Avan. Invest. Agrop.* pp. 2-7.

Pérez-López, S., Leyva O.C., Cancino, M. C. A., Lastra D. G., Morales C. J. L., Mellado B. M., Adame D. F. U. (2012). Effect of eCG during Ovsynch and hCG post-insemination on conception rate in high-yielding Holstein cows. *Anim. Reprod.*, 9, 858.

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

Ruegg, P.L., MILTON, R.L. 1995. Body condition scores of Holstein cows on prince Edward Island, Canada: Relationship with yield, reproductive performance, and disease. *J Dairy Sci* 78:552-64.

Sartori, R., Barros, C. 2011. Reproductive cycles in *Bos Indicus* cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 124, 244–250.

Souza, A. H., Viechniesky, S., Lima, F. A., Silva, F. F., Araújo, R., Bó, G. A. 2009. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. *Theriogenology*, 72, 10-12.

Walsh, S. W., Williams, E. J., Evans, A. C. O. 2011. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 123, 127-138.

Wiltbank, M. C., Pursley, J. R. 2013. The Cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology*, available on line ahead of print.