

Implementación y Evolución de Protocolos para la Inseminación Artificial a Tiempo Fijo durante la Lactancia en Vacas Lecheras

Paul M. Fricke, PhD

Departamento de Lechería, Universidad de Wisconsin-Madison

Introducción

Como la probabilidad o riesgo de preñez (**RP**) es función tanto de la probabilidad o riesgo de servicio (**RS**) como de la probabilidad o riesgo de concepción (**RC**), el esfuerzo para mejorar la RP debe considerarlos a ambos, RS y RC. El riesgo de servicio puede ser fácilmente manipulado con la implementación de protocolos de sincronización de celos u ovulación, pero, en la mayoría de las circunstancias, es más difícil lograr incrementos en RC. En la Universidad de Madison hemos enfocado las investigaciones realizadas en nuestro laboratorio en programas de sincronización y resincronización sistemáticos para vacas lecheras en lactancia tanto en métodos que aumenten la tasa de concepción y/o disminuyan las pérdidas de la preñez (**PL**) después de inseminación artificial a tiempo fijo (**IATF**).

Los investigadores en Fisiología Reproductiva por largo tiempo han tratado de desarrollar un programa de sincronización de la ovulación que pueda superar los problemas y limitaciones asociados a la detección visual del celo. En el año 1995 tal programa fue desarrollado en la Universidad de Wisconsin-Madison (Pursley et al., 1995) y es hoy en día comúnmente conocido como Ovsynch. El protocolo Ovsynch sincroniza el desarrollo folicular, la regresión luteal y la ovulación de tal forma que la inseminación artificial (IA) puede ser practicada a un tiempo fijo sin la necesidad de detectar el celo. Posteriores estudios, en los que se repitió el mismo protocolo comprobaron los resultados de la publicación original (Burke et al., 1996; Pursley et al., 1997a, b), y rápidamente los productores lecheros comenzaron a utilizar Ovsynch como una herramienta de manejo reproductivo.

A medida que los científicos y productores lecheros comenzaron a investigar e implementar esta nueva tecnología, comenzó una nutrida interacción entre los científicos, quienes desarrollaron estos programas, y los productores quienes los implementaron a campo. Como una forma de tratar de mejorar la sincronización y la fertilidad asociada, los investigadores comenzaron a modificar el protocolo Ovsynch original por medio de la pre-sincronización, alterando el momento de la IA en relación con la ovulación, y examinando nuevos intervalos entre las inyecciones del protocolo original. Sin embargo, aquellos protocolos que permiten la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) y minimizan o eliminan la necesidad de detectar el celo deben poder ser de implementación práctica y no interferir o sobrecargar las actividades diarias de la operación lechera o fallaran debido a la falta de cumplimiento (Fricke, 2003), lamentablemente este concepto no era una prioridad en la mente de muchos de los investigadores pioneros en el área. De esta forma fue que muchos productores lecheros comenzaron a modificar los protocolos publicados en la bibliografía científica para que se adecuen a la dinámica diaria de su operación lechera lo cual genero mas investigación aplicada en este campo. Aun cuando esta interacción continua, estamos rápidamente convergiendo en las pocas opciones que mezclan lo mejor que la investigación tiene para ofrecer con la facilidad de implementación necesaria para una operación lechera.

El siguiente análisis comienza con la implementación de Ovsynch como parte de un sistema de manejo reproductivo que lo utiliza solo como tratamiento para aquellas vacas que no hayan sido

previamente detectadas en celo, y termina con un programa sistemático de sincronización y re sincronización de la ovulación en vacas lecheras lactantes con muy baja o nula utilización de la detección de celos.

Incorporación de un sistema de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo para el Manejo Reproductivo

Un principio fundamental en biología reproductiva es que el primer paso necesario para lograr preñar una vaca es inseminarla o darle servicio. Desafortunadamente, muchas vacas no reciben su primera IA hasta los 100 días en leche (DEL). La primera inseminación post-parto representa una oportunidad única para el manejo reproductivo de vacas lecheras debido a que todas las vacas en el rebaño tienen un estado reproductivo conocido en ese momento (no preñada) lo cual permite el uso de sistemas de sincronización que utilizan PGF_{2α} sin correr el riesgo de abortar una preñez previamente establecida. Más aun, la reducción del intervalo entre el parto y la primera cubierta en todas las vacas del rebaño tiene un efecto profundo en la eficiencia reproductiva. El período que transcurre desde el parto hasta que una vaca es elegible para recibir su primera IA se lo conoce como el periodo de espera voluntario (PEV). Como el nombre lo indica, la duración de este intervalo es voluntaria (decisión de manejo) y tradicionalmente varía entre los 40 y 70 días en la mayoría de los rebaños lecheros. La decisión de que protocolo de sincronización sistemático puede ser utilizado en vacas en lactancia se obtiene respondiendo dos preguntas: 1) ¿Cuántas vacas se deben inseminar al primer servicio post parto? y 2) ¿Cuántas de las vacas que no se preñan al primer servicio deben ser re enroladas para su segundo o subsecuentes servicios? Ejemplos obtenidos en tres lecherías de Wisconsin nos muestran tres vías alternativas de aproximación ha como tomar estas decisiones de manejo.

La figura numero 1 ilustra la ineficiencia en la detección de celos para presentar vacas a una primera IA post-parto en un rebaño de 500 vacas manejado usando detección visual del celo. Los DEL a primer servicio están representados en el eje vertical (eje y) mientras que la fecha de parto está representada en el eje horizontal (eje x). Cada cuadro representa una observación, o una vaca dentro del rebaño y la línea negra ha sido dibujada horizontalmente a los 100 DEL. Aquellas vacas que reciben su primera IA antes de 100 DEL quedan por debajo de la línea negra, mientras que aquellas que reciben su primera IA luego de los 100 DEL quedan sobre la línea negra.

Aproximadamente un tercio de las vacas del rebaño, que se encuentran en el panel superior de la Figura 1 superan 100 DEL antes de la primera inseminación. Resulta obvio que ninguna de esas vacas tuvo la posibilidad de quedar preñada antes de los 100 DEL, porque no habían sido todavía inseminadas. Aunque la mayoría de los productores determina un tiempo de duración para el PEV, en algunas ocasiones, vacas individuales son inseminadas antes del fin del PEV. El PEV para el rebaño ilustrado en la Figura 1 es de 50 DEL; sin embargo algunas vacas son inseminadas antes de este tiempo. La decisión de inseminar una vaca por primera vez después del parto es determinada basándose en cuando (o si) la vaca es detectada en celo mas que en la decisión de manejo predeterminada de esperar que concluya el PEV. En estos casos la decisión de inseminar depende mas de la vaca que del administrador del rebaño. La decisión de inseminar las vacas antes de que el PEV transcurra es motivada por un factor, y ese factor es el “miedo”. La mayoría de los productores se asustan al tomar la decisión de no inseminar una vaca en celo porque podría no ser detectada en celo de nuevo hasta mucho mas tarde en la lactancia. Desafortunadamente el riesgo es a menudo tomado en lecherías que dependen de la detección

visual de celo para la IA, con una pobre detección de celo realizada por el personal de la lechería sumado a una pobre expresión de celo. Estudios recientes han estimado que el 20-30% de las vacas en lactación no ciclan hasta los 60 DEL (Pursley et al., 2001; Gumen et al., 2003). Por lo tanto si la Figura 1 refleja el desempeño reproductivo de su rebaño lechero usted debería considerar el utilizar un programa de inseminación controlado para iniciar la IA después del parto.

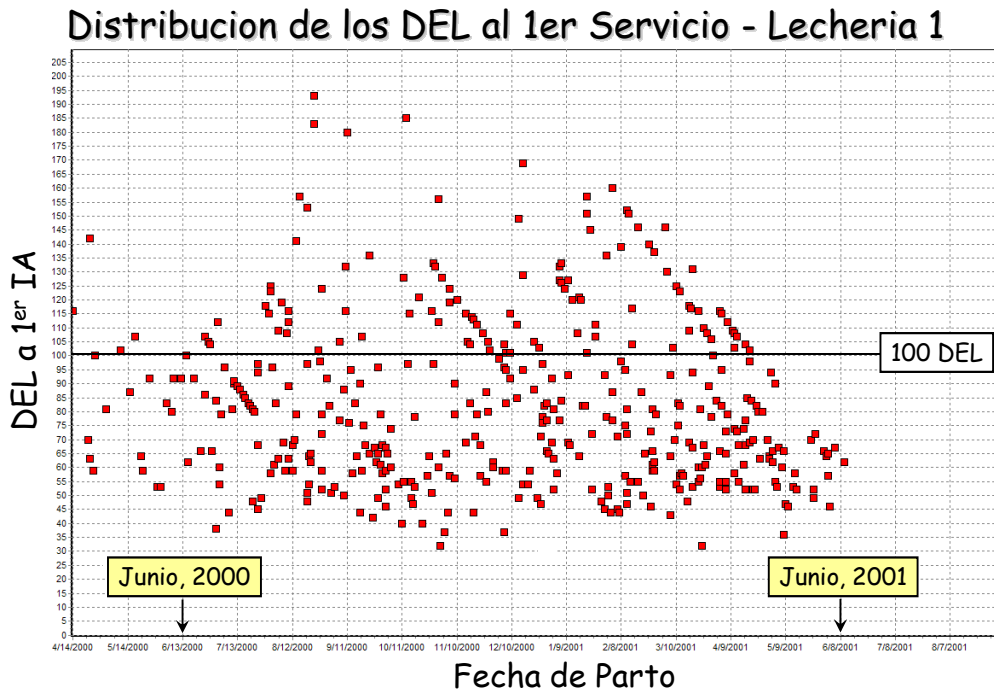


Figura 1. Días en leche a la primera cubierta (eje y) y fecha de parto (eje x) para vacas manejados utilizando detección visual de celo para la primera IA posparto. En este rebaño cerca de un tercio de las vacas son inseminadas por primera vez después de los 100 DEL.

Implementacion de Ovsynch usando el metodo de la “Puerta Trasera”

Ovsynch sincroniza el desarrollo folicular, la regresión luteal, y el momento de la ovulación, permitiendo de ese modo la IA a tiempo fijo (IATF) después de la segunda inyección de GnRH lo cual mejora la tasa de servicio (Pursley et al., 1995). La ovulación de un folículo dominante en respuesta a la segunda inyección de GnRH ocurre en aproximadamente el 85% de las vacas de leche en alta producción que reciben este protocolo (Fricke et al., 1998). La ovulación ocurre entre las 24 y 32 horas después de la segunda GnRH en vacas sincronizadas, seguidas por el desarrollo de una nueva onda folicular (Pursley et al., 1995). Usando una dosis de 50 µg (1.0 ml) of Cystorelin por cada inyección del protocolo Ovsynch tiene resultados similares en la tasa de concepción que con una dosis de 100 µg (2.0 ml) de Cystorelin (Fricke et al., 1998). A pesar de que una dosis reducida de Cystorelin ha demostrado ser efectiva, la dosis indicada en el prospecto para PGF_{2α} debe ser utilizada para todos los protocolos de IATF.

Distribucion de DEL a 1er Servicio: Lecheria 2

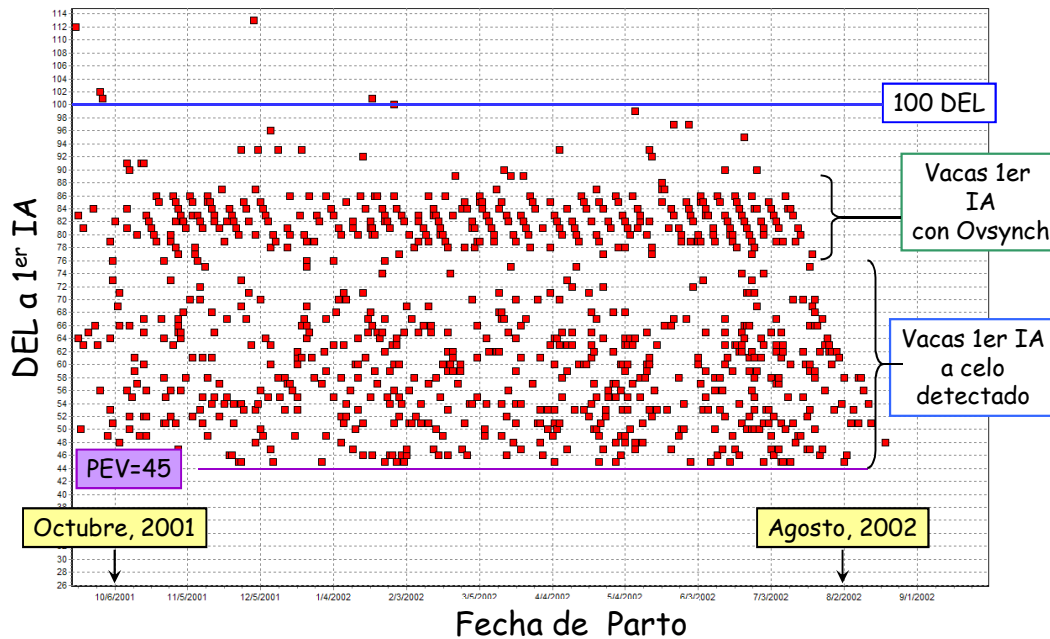


Figura 2. Días en leche a la primera IA (eje y) y fecha de parto (eje x) para vacas manejadas usando una combinación de detección visual de celo y Ovsynch con IATF para la primera IA postparto. En este establecimiento, las vacas no son detectadas en celo durante los primeros 25 días después del PEV y se inicia el Ovsynch alrededor los 70 DEL.

La Figura 2 ilustra un rebaño de 1,600 vacas manejado utilizando una combinación de detección visual de vacas en celo y Ovsynch con IATF para la primera IA postparto. Similar a la Figura 1, los DEL a la primera IA están representados en el eje vertical (eje y) y las fechas de parto están representadas en el eje horizontal (eje x). En este rebaño las vacas que no han sido detectadas en celo en los primeros 25 días después del periodo voluntario de espera (45 a 70 d) inician el Ovsynch con la primera inyección de GnRH alrededor de los 70 DEL y reciben la primera IATF 10 días después sobre los 80 DEL. Este sistema se conoce como el método de la “Puerta Trasera” porque el Ovsynch es utilizado como un “sistema de limpieza” de las vacas que no han sido detectadas en celo. No es extraño que el Ovsynch tenga resultados en la tasa de concepción menores que la IA a celo detectado cuando analizamos y comparamos los datos en un rebaño que utiliza el método de la “Puerta Trasera”. Es muy probable que esto suceda porque las vacas que no son detectadas en celo presentan algún tipo de dolencia o porque son vacas que no están ciclando. Si este es el caso lo esperable es una baja tasa de concepción del Ovsynch porque se está realizando en un subgrupo de vacas con una pobre fertilidad, mientras que las vacas que ciclan son inseminadas a celo detectado.

Varios estudios han demostrado que el Ovsynch es altamente efectivo y económico cuando se lo utiliza como una estrategia para mejorar los resultados reproductivos en vacas en lactación de alta producción (Burke et al., 1996; Pursley et al., 1997a, b; Britt and Gaska, 1998). Los primeros estudios compararon las tasas de concepción del Ovsynch en vacas de leche en lactación manejadas en rebaños en confinamiento y comprobaron que los resultados eran similares en las vacas tratadas con Ovsynch y en las vacas inseminadas a celo detectado (Pursley

et al., 1997a,b). Sin embargo varios estudios posteriores han reportado resultados de Ovsynch con menores tasas de concepción que IA en celo detectado (Jobst et al., 2000; Stevenson et al., 1999). En aquellas lecherías manejadas en pastoreo la efectividad del Ovsynch es ambigua (Cordoba and Fricke, 2001, 2002). Todavía se desconocen los factores que influyen en la variación de las tasas de concepción para IATF entre rebaños; pero entre ellos se pueden incluir la proporción de vacas anovulatorias en el rebaño, la dinámica folicular de vacas individuales dentro del rebaño o la habilidad del personal del establecimiento para poner en práctica el protocolo de Ovsynch.

Programando vacas para la primera IA posparto usando Presynch/Ovsynch

Los primeros resultados con Ovsynch (Pursley et al., 1995) indicaron que todas las vacas no preñadas podían ser enroladas dentro del protocolo sin importar el estadio del ciclo estral. Sin embargo, subsecuentes resultados de Vasconcelos et al. (1999) utilizando vacas en lactación, y aquellos de Moreira et al. (2000a) utilizando vaquillas muestran que el inicio del Ovsynch entre el día 5 y 12 del estro puede mejorar los resultados en la tasa de concepción sobre la original protocolo de Ovsynch. La pre-sincronización hormonal de un grupo vacas cíclicas en diferentes estadios del ciclo estral para iniciar Ovsynch entre los días 5 y 12 del ciclo estral puede lograrse utilizando dos inyecciones de PGF_{2α} administradas con un intervalo de 14 días antes de la primera inyección de GnRH del Ovsynch. Una estrategia de pre-sincronización donde se administra PGF_{2α} con un intervalo de 14 días y se comienza Ovsynch 12 días luego de la segunda PGF_{2α} ha demostrado mejorar la tasa de concepción en vacas en lactación comparado con el Ovsynch (Moreira et al., 2000c). En este experimento vacas en lactación fueron asignadas de manera aleatoria para recibir Ovsynch (n=262) o Presynch (n=264) para la primera IATF postparto la cual fue realizada 16h luego de la segunda inyección de GnRH. La primera y la segunda inyección de PGF_{2α} para las vacas del grupo Presynch fueron administradas en los días 37 y 51 en lactación, respectivamente, y todas las vacas se inseminaron a los 73 días en lactación. Para vacas ciclando, la tasa de concepción aumento desde un 29% para el Ovsynch a un 43% para las vacas con protocolo Presynch; Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas cuando todas las vacas (cíclicas y anovulares) fueron incluidas en el análisis. De este modo el uso de Presynch para programar la primera inseminación posparto en vacas en lactación puede mejorar la tasa de concepción al primer servicio en una lechería. Un posible programa se tratamiento hormonal con IATF marcado se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Posible programa de tratamiento hormonal e IATF para el protocolo Presynch/Ovsynch basado en los resultados de Moreira et al., 2000c.

| Domingo | Lunes | Martes | Miercoles | Jueves | Viernes | Sabado |
|---------|-------|--------|-----------|--------|---------|--------|
| | | | | PGF | | |
| | | | | PGF | | |
| | | GnRH | | | | |
| | | PGF | | GnRH | IATF | |

PGF = prostaglandina F_{2α}, **GnRH** = hormona liberadora de las gonadotropinas, **IATF** = inseminación artificial a tiempo fijo.

Una pregunta habitual en lo que respecta a los datos originales del Presynch de Moreira et al. (2000c) se refiere a la importancia de los 12 días de intervalo entre la segunda inyección de PGF_{2α} y la primera inyección GnRH. Si este intervalo pudiera extenderse a 14 días en vez de a 12 días, las primeras cuatro inyecciones podrían ser programadas para administrarse el mismo día

de la semana durante las sucesivas semanas. Esto es importante para la conformidad de los establecimientos en asignar grupos de vacas para iniciar el protocolo semanalmente de manera que las inyecciones programadas no sean confusas entre grupos.

Un estudio fue diseñado para determinar si dos inyecciones de $\text{PGF}_{2\alpha}$ administradas con 14 días de intervalo y comenzar Ovsynch 14 días luego de la segunda inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$ podría cambiar la dinámica folicular, el índice de ovulación y las tasa de concepción en vacas lecheras en lactación (Navanukraw et al., 2004). Para tal estudio vacas Holstein en lactación (n=257), no preñadas y con DEL >60 fueron separadas por número de partos y aleatoriamente asignadas a cada uno de los dos grupos. Las vacas del primer grupo (Ovsynch, n=128) recibieron 50 μg GnRH (d -10); 25 mg $\text{PGF}_{2\alpha}$ (d -3) y 50 μg GnRH (d -1) comenzando a una fase aleatoria del ciclo estral. Las vacas en el segundo grupo (Presynch, n=129) recibieron el tratamiento Ovsynch pero con la adición de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (25 mg) en d -38 y -24. Todas las vacas recibieron IATF (d 0) 18 h después de la segunda inyección de GnRH. La única ventaja de este protocolo modificado es que las primeras cuatro inyecciones del protocolo pueden ser programadas para el mismo día de la semana durante las semanas sucesivas. Esto se hace importante para la conformidad de los productores de leche que asignan vacas a los grupos para iniciar el protocolo semanalmente basándose en programas de administración que consigan no ser confusos entre grupos de vacas (Fricke et al., 2003). Un posible programa de tratamiento hormonal de IA programada basada en esta investigación se muestra en esta Tabla 2.

Tabla 2. Un posible programa de IATF con tratamiento hormonal para el protocolo Presynch/Ovsynch basado en los resultados de Navanukraw et al., 2004.

| Domingo | Lunes | Martes | Miercoles | Jueves | Viernes | Sabado |
|---------|-------|--------|-----------|--------|---------|--------|
| | | PGF | | | | |
| | | PGF | | | | |
| | | GnRH | | | | |
| | | PGF | | GnRH | IATF | |

PGF = prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$, **GnRH** = hormona liberadora de las gonadotropinas, **IATF** = inseminación artificial a tiempo fijo.

Como se muestra en la Tabla 3, aunque la proporción de vacas que ovulan después de la primera y de la segunda inyección de GnRH no es estadísticamente diferente entre tratamientos, la tasa de concepción fue mayor ($P < 0.05$) para vacas en el grupo Presynch vs. Ovsynch. Estos datos confirman que esta modificación al protocolo Presynch-Ovsynch aumenta la tasa de concepción en vacas de leche en lactación que reciben IA a tiempo fijo y algunas lecherías que utilizan Presynch han incorporado este protocolo modificado. De acuerdo con nuestra hipótesis, RP/IA de vacas que recibieron el protocolo modificado de Presynch fue mayor ($P < 0.05$) que las vacas que recibieron Ovsynch (Tabla 3). Esta observación respalda y amplía previos informes en los cuales la pre-sincronización usando dos inyecciones de $\text{PGF}_{2\alpha}$ con un intervalo de 14d y comenzando 26 días antes del inicio del tratamiento de Ovsynch aumenta el resultado de preñez a la inseminación artificial (RP/IA) a tiempo fijo en vacas lecheras en lactación comparadas con Ovsynch (Moreira et al., 2001; El-Zarkouny et al., 2002).

Tabla 3. Proporción de vacas ovulando a la primera y segunda GnRH y tasa de concepción (PR/IA) a la IATF para vacas lactantes recibiendo Ovsynch o Presynch modificado (Adaptado de Navanukraw et al., 2004).

| Item | Tratamiento ¹ | |
|---|-------------------------------|-------------------------------|
| | Ovsynch | Presynch |
| Sincronización de la ovulación | | |
| Ovulación luego de la 1er GnRH (%) (no./no.) | 41.1 (23/56) | 35.9 (19/53) |
| Ovulación luego de la 2da GnRH (%) (no./no.) | 69.6 (39/56) | 81.1 (43/53) |
| PR/IA (%) (no./no.) | 37.3 ^a (50/134) | 49.6 ^b (67/135) |

^{a,b}Proporciones difieren ($P < 0.05$).

Porque mecanismo el protocolo Presynch aumenta la fertilidad?

Aunque varios estudios han reportado que la tasa de concepción aumenta debido a que el protocolo Presynch utiliza dos inyecciones de PGF_{2α} (Moreira et al., 2001; El-Zarkouny et al., 2002; Navanukraw et al., 2004), los mecanismos específicos por los cuales la pre-sincronización mejora la concepción continúan sin ser determinados. Uno de los posibles mecanismos por los cuales Presynch puede mejorar la concepción es porque pre-sincroniza el ciclo estral de manera que las vacas inician la primera inyección de Ovsynch a una etapa específica del ciclo. El comienzo del Ovsynch entre el día 5 y 9 del ciclo estral en vacas lecheras en lactación da como resultado un mayor índice de sincronización y de RP/IA comparadas con otras etapas del ciclo (Vasconcelos et al., 1999).

La administración de la primera inyección de GnRH entre el día 5 y 9 del ciclo estral puede aumentar la probabilidad de ovulación del folículo dominante de la primera onda folicular del ciclo estral de ese modo mejora la sincronización de la nueva onda emergente del ciclo y sincroniza la ovulación a la segunda inyección de GnRH del Ovsynch. Cuando la etapa del ciclo en la cual se administra la primera inyección de GnRH es el día 5 al 10 del ciclo estral es posible que los niveles de progesterona (P4) proporcionen un ambiente más favorable para el desarrollo del folículo ovulatorio lo cual puede afectar la concepción.

Los datos que apoyan un efecto positivo de la P4 elevada al inicio del Ovsynch en la concepción son ambiguos. Una única inyección de PGF_{2α} administrada 10d antes del inicio del Ovsynch a vacas en lactación en 5 rebaños en Ontario, Canadá no aumentó la tasa de concepción comparado con el Ovsynch solo (LeBlanc and Leslie, 2003). La administración de PGF_{2α} a vacas en lactación 12d antes de la primera inyección de GnRH del Ovsynch mueve a las vacas a una fase luteal temprana del ciclo estral al momento de la primera inyección de GnRH sin embargo no se observan mejora en los resultados reproductivos comparado con el Ovsynch (Cordoba and Fricke, 2001). Para contrastar, una inyección única de PGF_{2α} administrada 12d antes del Ovsynch mueve las vacas a un temprano diestro en la primera inyección de GnRH pero aumenta la concepción solo en las vacas multíparas y no en las vacas primíparas comparada con el Ovsynch (Cartmill et al., 2001). Cuando vacas en lactancia fueron presincronizadas con PGF_{2α} 10d y GnRH 7d antes del inicio del Ovsynch, el aumento de la proporción de vacas en la fase luteal al inicio del Ovsynch no afectó la concepción en un programa IATF (Peters and Pursley, 2002).

Una posible explicación para el aumento en el RP/IA utilizando dos inyecciones de $\text{PGF}_{2\alpha}$ comparado con otra estrategia de pre-sincronización es que las dos inyecciones sucesivas de $\text{PGF}_{2\alpha}$ pueden ejercer un efecto positivo en el ambiente uterino. En vacas lecheras en lactación, la concepción aumenta cuando aumenta el número de estros que aparecen en el periodo de postparto (Thatcher and Wilcox, 1972), y un efecto positivo de la administración de $\text{PGF}_{2\alpha}$ en la concepción ha sido demostrado en la vaca (Roche, 1976; Macmillan and Day, 1982). Las vacas que ciclan deben presentar celo una vez o dos antes de la IATF cuando son sometidas a un protocolo de pre-sincronización usando dos inyecciones de $\text{PGF}_{2\alpha}$ administradas con 12 o 14d de intervalo. En apoyo de esta idea, vacas que ciclaron al inicio de la pre-sincronización usando dos inyecciones de $\text{PGF}_{2\alpha}$ muestran un aumento de la tasa de concepción, pero cuando son incluidas vacas anovulatorias en el análisis no se detecta efecto de la pre-sincronización (Moreira et al., 2001). La administración de $\text{PGF}_{2\alpha}$ puede actuar también a través de una regulación de la respuesta inmune uterina como se demostró en cerdas (Wulster-Radcliffe et al., 2001) y en ovejas (Lewis and Wulster-Radcliffe, 2001). Futuras investigaciones son necesarias para comprender por completo los mecanismos por los cuales la pre-sincronización aumenta el RP/IA en vacas lecheras en lactación.

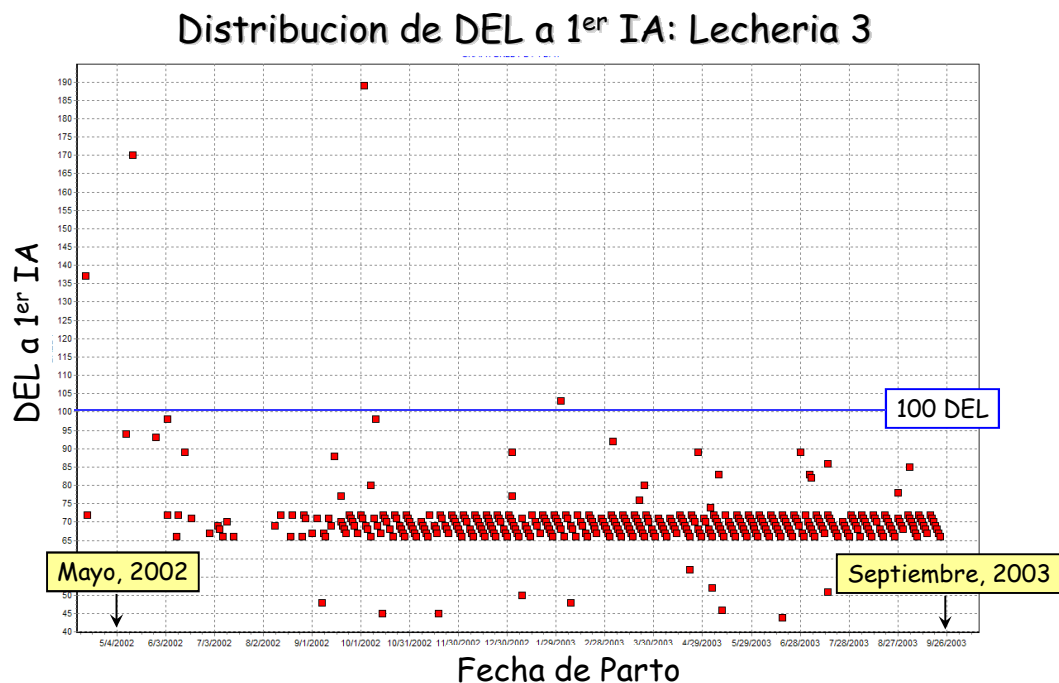


Figura 3. Días en leche a la primera IA (eje-y) fecha de parto (eje-x) para vacas en Presynch/Ovsynch en IATF para el primer servicio postparto. En este rebaño el 98% de las vacas son inseminadas a tiempo fijo para el primer servicio y menos de un 5% son inseminadas a celo detectado.

Implementación de un protocolo Presynch/Ovsynch

El uso de un programa controlado de inseminación como Presynch/Ovsynch para el primer servicio expone a todas las vacas del rebaño al riesgo de quedar preñadas en el momento final del PEV. La Figura 3, ilustra las 1,100 vacas de un rebaño manejado utilizando un programa Presynch/Ovsynch como el que se muestra en la Tabla 2. Similar a las Figuras 1 y 2, los DEL a

la primera inseminación están trazados en el eje vertical (eje-y) y la fecha de parto está representada en el eje horizontal (eje-x). En este rebaño casi todas las vacas reciben la primera IA posparto entre el día 65 y 63 postparto. En este escenario, el final del PVE es aproximadamente igual a la media de días al primer servicio para todas las vacas del rebaño. Por supuesto no todas las vacas quedan preñadas en la primera inseminación, el índice de concepción en las vacas lecheras en lactación es pobre, y los programas de inseminación con tratamiento hormonal aumentan los índices de preñez aumentando la tasa de inseminaciones no la tasa de concepción.

Cuando realizar la IATF después de la segunda dosis de GnRH.

Los protocolos de manejo reproductivo que permiten IATF y minimizan o eliminan la detección visual del celo deben ser prácticos para poder mejorar el día a día de trabajo en la lechería o el protocolo fallará debido a una falta de cumplimiento (Fricke, 2003). Es muy común que algunos establecimientos decidan adoptar un programa de IATF donde la IA programada es realizada al mismo tiempo que se administra la segunda dosis GnRH (e.j, Cosynch) de ese modo eliminamos un periodo de manejo comparado con el protocolo de Ovsynch (Pursley et al., 1995). A pesar de que la inseminación tiempo fijo en el Cosynch no maximiza el índice de concepción de la IA programada (Pursley et al, 1998; Dalton et al., 2001), el uso de Cosynch se tiene en cuenta para vacas que deben ser manejadas en el mismo momento del día en días diferentes, de este modo nos permite trabajar en rebaños donde las vacas se manejan con “head-locks” (sistema de trabado de cabeza individual) o en una manga de palpación rectal en lecherías que realizan tres ordeños diarios en donde el tiempo de manejo está limitado por los intervalos entre ordeños.

Para evaluar el momento óptimo de la IA en relación a la ovulación sincronizada, un estudio con vacas lecheras en lactación (n= 733) de lecherías de Wisconsin con una producción media de entre 9,900 y 11,800 Kg. por lactación fueron aleatoriamente asignadas a cinco grupos por momento en lactación y número de partos (Pursley et al., 1998). La ovulación fué sincronizada utilizando Ovsynch, y las vacas se inseminaron a las 0, 8, 16, 24, o 36 horas después de la segunda inyección de GnRH. En este estudio, el grupo inseminado a la hora 0 es equivalente a un protocolo Cosynch. Como se observo en un estudio preliminar, todas las vacas ovularon entre las 24 y 36 horas después de la segunda dosis de GnRH. Se varió el momento de las inyecciones de modo que todas las vacas fueron inseminadas al mismo tiempo y los inseminadores desconocían a que grupo de tratamiento pertenecían las vacas. El diagnóstico de gestación fué realizado entre los días 25 y 35 post-IA para todos los grupos utilizando ecografía transrectal.

Tabla 4. Mediciones reproductivas en vacas lecheras en lactación inseminadas en varios periodos en relación a la ovulación sincronizada con una inyección de GnRH (Adaptado de Pursley et al., 1998). En este experimento, el grupo a la hora 0 es equivalente a un Cosynch.

| Item | Horas desde la segunda GnRH a la IATF | | | | | Total |
|-----------------------|---------------------------------------|-----|-----|-----|------|-------|
| | 0 | 8 | 16 | 24 | 32 | |
| n | 149 | 148 | 149 | 143 | 143 | 732 |
| Tasa concepcion (%) | 37 | 41 | 45 | 41 | 32** | 39 |
| Perdida de preñez (%) | 9** | 21 | 21 | 21 | 32 | 22 |
| Tasa de parto (%) | 31 | 31 | 33 | 29 | 20* | 29 |

*Difieren dentro de una fila ($P<0.05$).

**Difieren dentro de una fila ($P<0.10$).

El índice de concepción y el índice de partos fue mayor ($P<0,05$) para vacas en los grupos de 0, 8, 16, y 24 horas comparado con el grupo de 32 horas (Tabla 4). La perdida de preñez fue menor ($p<0,05$) para el grupo 0 horas comparado con todos los otros grupos, y aparece un mayor

tendencia para la pérdida de preñez en el grupo 32 ($P < 0,1$; Tabla 4). Así que aunque no aparecen diferencias en el índice de concepción cuando se inseminan desde 0 a 24 horas después de la segunda dosis de GnRH, inseminar muy tarde (e.j., a las 32 horas) disminuye el índice de concepción.

Comparación de las combinaciones de Presynch/Ovsynch y Presynch/Cosynch

Una columna reciente en Hoard's Dairyman (Stevenson, 2004), presenta resultados no publicados de un estudio de campo realizado en dos lecherías en el noreste de Kansas que compara varias combinaciones de Presynch/Ovsynch y Presynch/Cosynch. Todas las vacas estaban en < 40 DEL al inicio del protocolo Presynch y fueron ordeñadas tres veces por día y con una producción por encima de los 10,000 Kg de leche. Todas las vacas recibieron dos inyecciones de 25mg de $PGF_{2\alpha}$ con 14 días de diferencia, con la segunda dosis administrada 12 días antes de la primera inyección de GnRH del Ovsynch. Las vacas fueron separadas en grupos en función del número de lactaciones y se les asignó de manera aleatoria un grupo de los tres posibles (A, B, o C). Las vacas en los grupos A y B recibieron dos inyecciones de GnRH, una 7 días antes y otra 48 horas después de la $PGF_{2\alpha}$. La inseminación fue realizada al mismo tiempo de la administración de la segunda dosis de GnRH (Ej. Cosynch; tratamiento A) o 24 h más tarde (tratamiento B). Las vacas en el tratamiento C recibieron la segunda inyección de GnRH 72h después de la dosis de $PGF_{2\alpha}$ y se inseminaron al mismo tiempo. Todas las vacas en cada uno de los tres tratamientos fueron IATF irrespectivamente de que hayan demostrado celo antes del momento programado de la IA. Los resultados se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Mediciones reproductivas en vacas lecheras en lactación inseminadas en varios periodos en relación a la ovulación sincronizada con una inyección de GnRH (Adaptado de Stevenson, 2004).

| Rebaño | Tratamiento | | | Promedio |
|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | A | B | C | |
| 1 | 16 (80) | 19 (78) | 24 (76) | 20 ^a (234) |
| 2 | 27 (141) | 34 (147) | 41 (144) | 34 ^b (432) |
| Promedio | 23 ^c (221) | 29 ^c (225) | 35 ^d (220) | 29 (666) |

^{a,b}Efecto de rebaño ($P < 0.01$).

^{c,d}Efecto de tratamiento ($P < 0.05$).

En este estudio, la IA programada a las 0 y a las 24 h después de la GnRH cuando la GnRH fue administrada 48 h después de la dosis de $PGF_{2\alpha}$ muestra menor fertilidad que en el grupo donde la GnRH y la IA se realizan 72 h después de la administración de $PGF_{2\alpha}$. El tratamiento C permite ahorrar tiempo y trabajo porque las vacas reciben el tratamiento y la IA el mismo día y se puede realizar todo el protocolo a la misma hora del día (Ej. todo por la mañana o todo por la tarde). Un posible programa de tratamiento hormonal e inseminación a tiempo fijo se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Un posible programa de tratamiento hormonal e IA a tiempo fijo para un protocolo de Presynch/Ovsynch basado en los resultados de Navanukraw et al., 2004.

| Domingo | Lunes | Martes | Miercoles | Jueves | Viernes | Sabado |
|---------|-------|--------|-----------|--------|-----------|--------|
| | | | | PGF | | |
| | | | | PGF | | |
| | | GnRH | | | | |
| | | PGF | | | GnRH+IATF | |

PGF = prostaglandina $F_{2\alpha}$, GnRH = hormona liberadora de las gonadotropinas, IATF = inseminación artificial a tiempo fijo.

Programando la primera y la segunda IA: Presynch y Resynch

Un manejo reproductivo agresivo comprende tres estrategias que pueden ser implementadas temprano durante el periodo reproductivo de las vacas en lactación: 1) someter a las vacas para la primera IA posparto al final del periodo de espera voluntario, 2) identificar a las vacas no preñadas post-IA, 3) recuperar las vacas que no quedaron preñadas en la primera IA para realizar el segundo servicio. El tiempo de demora en realizar la segunda IA a vacas que no quedaron preñadas en el primer servicio es esencial para mejorar la eficiencia reproductiva y la rentabilidad de una lechería. Debido a que la tasa de concepción para la IA en vacas lecheras altamente productoras es de un 40% o menos (Pursley et al., 1997a; Fricke et al., 1998), 60% o mas para vacas en lactación que fallan en concebir al primer servicio de IA. Ahora que es relativamente fácil programar vacas para la primera IA posparto, algunos productores preguntan cual es el mejor modo de identificar vacas no preñadas y programarlas para un subsecuente y segundo servicio de IA.

Nosotros recientemente hemos conducido un estudio para testear tales sistemas en una lechería (Fricke et al., 2003). Nuestro objetivo fue comparar la tasa de concepción a la primera IA programada después de modificar el protocolo Presynch con las tasas de concepción después de la resincronización de la ovulación usando Ovsynch a tres intervalos post IA programada (Resynch). Vacas lecheras en lactación (n =711) en una lechería comercial en el centro Norte de Wisconsin, fueron incluidas en este estudio que comenzó el 10 de Mayo del 2001 y termino el 30 de mayo del 2002. Todas las vacas recibieron un protocolo de Presynch modificado para la primera IA programada posparto como se indica: 25 mg PGF_{2α} (d 32 ± 3; d 46 ± 3); 50 µg GnRH (d 60 ± 3); 25 mg PGF_{2α} (d 67 ± 3) y 50 µg GnRH (d 69 ± 3) posparto. Todas las vacas se inseminaron inmediatamente después de la segunda dosis de GnRH de el protocolo Presynch (d 0) como la inseminación en un programa Cosynch. A la primera IA programada las vacas fueron aleatoriamente asignadas a cada uno de los tres grupos de tratamiento, para resincronizar la ovulación (Resynch) utilizando Ovsynch [50 µg GnRH (d -9); 25 mg PGF_{2α} (d -2) y 50 µg GnRH + IA (d -0)] para inducir la segunda IA en vacas que fallan en la concepción a la primera IA programada. Todas las vacas (n= 235) en el primer grupo (Dia 19) recibieron una inyección de GnRH en el día 19 post IA y continuaron el protocolo de Ovsynch si se diagnosticaban no preñadas utilizando ecografía el día 26 post IA. En el segundo grupo (n= 240) se administró la GnRH el día 26 (Día 26) y en el tercer grupo (n= 236) el día 33 (Día 33) si se diagnosticaban por ecografía no preñadas el día 26 y 33 respectivamente después de la IA para realizar un Ovsynch.

Implícito al diseño del experimento, la evaluación del diagnostico de gestación no fue llevado a cabo en el mismo intervalo después de la IA del Ovsynch entre los tres grupos de tratamiento. El diagnóstico de gestación después de la IA fue realizado 26 días después de IA programada para las vacas de los grupos D19 y D26 mientras que para el grupo D33 el diagnóstico de gestación se realizó 33 días después de la IA del Ovsynch (Tabla 7). El total PR/IA para el Ovsynch fue de un 40% (286/711) y fue mayor para las vacas de los grupos D19 y D26 que para las del grupo D33 (Tabla 7). Esta diferencia es probablemente debida a un mayor periodo en el cual puede haber pérdida de preñez, ya que las vacas del grupo D33 tienen mayor intervalo entre la IA y el diagnóstico de gestación (26 vs. 33). Cuando el diagnostico de gestación fue reevaluado para las vacas de todos los grupos a los 68 días después de la IA del Ovsynch, el total de PR/IA del Ovsynch fue de un 31% (219/711) y no aparecieron diferencias entre tratamientos (Tabla 7). Por lo tanto, las diferencias en PR/IA al primer diagnóstico de gestación y las pérdidas de preñez

entre el primer y el segundo diagnóstico de gestación entre los diferentes grupos probablemente represente un efecto del tiempo al que se realiza el diagnóstico de gestación después de la IA inherente al diseño del experimento más que a una diferencia entre tratamientos

Tabla 7. Tasa de preñez para la inseminación artificial (PR/IA) y pérdida de preñez después de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en el Ovsynch (Adaptado de Fricke et al., 2003).

| Item | Grupo tratamiento | | | Promedio |
|--|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------|
| | D19 | D26 | D33 | |
| Intervalo desde 1ra IATF con Ovsynch al 1 ^{er} examen de preñez (d) | 26 | 26 | 33 | - |
| PR/IA al 1 ^{er} examen de preñez, % (no./no.) | 46 ^a (108/235) | 42 ^a (101/240) | 33 ^b (77/236) | 40 (286/711) |
| Intervalo desde IA con Ovsynch al 2 nd examen de preñez (d) | 68 | 68 | 68 | - |
| PR/IA al 2 ^{do} examen de preñez, % (no./no.) | 33 (78/235) | 30 (73/240) | 29 (68/236) | 31 (219/711) |
| Intervalo entre los exámenes (d) | 42 | 42 | 35 | - |
| Pérdida de preñez, % (no./no.) | 28 ^a (30/108) | 28 ^a (28/101) | 12 ^b (9/77) | 23 (67/286) |

^{a,b}Dentro de una fila, los porcentajes con las diferentes letras difieren ($P < 0.01$) entre grupos de tratamientos.

Un total de 41 vacas diagnosticadas no preñadas al Ovsynch no fueron enroladas en el Resynch para una segunda IA a tiempo programado por varias razones. Solamente el 5,6% de las vacas que no quedaron gestantes son le Ovsynch fueron visualmente detectadas en celo e inseminadas, subrayando la confianza de este establecimiento en la IA a tiempo programado para las vacas inseminadas. El total de PR/IA fue un 32% que fue mayor para los grupos D26 y D33 que para el grupo D19 (Tabla 6). Aunque el PR/IA para protocolos de IATF puede variar ampliamente entre rebaños, PR/IA después de Resynch para las vacas de D26 y D33 en el presente estudio es similar a la tasa de concepción después de Ovsynch encontrado previamente (Pursley et al., 1995; Fricke et al., 1998; Jobst et al., 2000).

Tabla 8. Tasa de concepción para la inseminación artificial (PR/IA) después de una inseminación a tiempo fijo (IATF) para Resynch comenzando 19, 26, o 33 días después de la primera IATF (Adaptado de Fricke et al., 2003).

| Item | Tratamiento | | | Promedio |
|---|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------|
| | D19 | D26 | D33 | |
| Media (\pm ES) intervalo (d) desde la IATF al examen de preñez (rango) | 27.1 \pm 0.4 (26 to 54) | 26.6 \pm 0.2 (26 to 40) | 33.7 \pm 0.4 (26 to 75) | - |
| PR/IA, % (no./no.) | 23 ^a (28/120) | 34 ^b (41/121) | 38 ^b (54/143) | 32 (123/384) |

^{a,b}Dentro de una fila, los porcentajes con las diferentes letras difieren ($P < 0.01$) entre grupos de tratamientos.

Las razones específicas que derivaron en la baja PR/IA del Resynch para las vacas del grupo D19 son desconocidas. El éxito de el protocolo de Ovsynch en vacas de leche en lactación varia dependiendo de la capacidad de ciclar y la fase del ciclo del estro al inicio del Ovsynch (Moreira

et al., 2001). La fase del ciclo del estro al inicio del Ovsynch afecta a la tasa de ovulación sincronizada a la primera inyección de GnRH y subsecuentemente a la tasa de concepción de la IA (Vasconcelos et al., 1999; Moreira et al., 2000a). Además, las vacas que inician el protocolo de Ovsynch temprano a mitad de el diestro (5 d a 12 del ciclo estral) cuando las concentraciones de progesterona en suero son elevadas, ovulan folículos mas pequeños y tienen mayor índice de concepción que las vacas que inician el Ovsynch durante el metaestro, al final del diestro o proestro (Vasconcelos et al, 1999). Asumiendo una media de duración del ciclo del estro de 23 días (Savio et al., 1990; Pursley et al., 1993; Sartori, 2002) para vacas que fallan en la concepción al Ovsynch e inician un Resynch, en el presente estudio podría aproximadamente coincidir con tres fases del ciclo: proestro (D19), metaestro (D26), y diestro (D33). Bajo este escenario y basado investigaciones previas (Vasconcelos et al., 1999; Moreira et al., 2000a), el inicio del Resynch 33 d después de la IA programada debería dar la mayor PR/IA. En el presente estudio, PR/IA para el Resynch fue numéricamente mayor (38%) para el grupo D33 pero no estadísticamente mayor que para el grupo D26 (Tabla 8). Esto sucede a pesar de el largo intervalo entre la IA programada de Resynch y el diagnóstico de gestación en el grupo D33 (33.7) comparado con el grupo D26 (26.6 d) y en adición al esperado aumento de incidencia de la perdida de preñez entre grupos similares que lo observado para PR/IA del Ovsynch

Los resultados de este estudio indican que el grupo D19 no sería una buena estrategia de resincronización debido a la baja PR/IA. Un veterinario que puede realizar con precisión el diagnóstico de preñez por palpación rectal a los 33 d post IA podría incorporar el protocolo D33 Resynch sin depender del uso de ecógrafo para los diagnósticos tempranos de preñez. Asumiendo que la administración de GnRH a vacas preñadas 33 d después de la IA programada no induce una perdida iatrogénica del embrión, todas las vacas podrían ser tratadas con GnRH 33 después de la IA. Las vacas recibirían la dosis de PGF_{2α} en caso de que no estuvieran preñadas en el diagnóstico de gestación por palpación rectal de una semana más tarde. Un posible programa de tratamiento hormonal e IA programada basada en este estudio se muestra en la Tabla 9

Tabla 9. Un posible programa de tratamiento hormonal con inseminación artificial a tiempo fijo para un protocolo Presynch/Ovsynch para la primera TAI y Resynchronización para la segunda TAI basado en resultados de Fricke et al., 2003.

| Domingo | Lunes | Martes | Miercoles | Jueves | Viernes | Sabado |
|---------|-------|--------|-----------|-----------|---------|--------|
| | | PGF | | | | |
| | | PGF | | | | |
| | | GnRH | | | | |
| | | PGF | | GnRH+TAI | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | GnRH | | | | |
| | | PG+PGF | | GnRH+IATF | | |

PGF = prostaglandina F_{2α}, GnRH = hormona liberadora de las gonadotropinas, IATF = inseminacion artificial a tiempo fijo, PG = diagnostico de preñez.

Ha sido previamente sugerido que diferencias en poblaciones de vacas con porcentajes variables de vacas que presentan dos o tres ondas foliculares por ciclo puede influir en la tasa de concepción del Ovsynch (Cordoba and Fricke, 2002). Sin embargo, son necesarias más investigaciones para desarrollar estrategias más exitosas de resincronización para el manejo reproductivo de vacas lecheras en lactación.

Pérdida embrionaria y confirmación de gestación.

La pérdida embrionaria contribuye a la ineficiencia reproductiva porque la fertilidad valorada en cualquier momento durante la preñez es una función que depende de la tasa de concepción y pérdida de preñez (Fricke, 2002). Para vacas diagnosticadas preñadas con Ovsynch, el total de la pérdida de preñez que sucede entre el primer examen de preñez y los 68 d de gestación fue del 23% (67/286) y mayor para las vacas de los grupos D19 y D26 que para las vacas de D33 (Tabla 7). Aunque no hay una comparación directa, los números de pérdidas de preñez en cada grupo de tratamiento casi explican por completo las diferencias en el PR/IA al primer examen de preñez después de la IA programada del Ovsynch entre los grupos de tratamiento (Tabla 7). De las vacas diagnosticadas preñadas a los 28 d después de la IA programada, un 10 a 16% sufrieron pérdida embrionaria a los 56 d de la IA (Mee et al., 1994; Vasconcelos et al., 1997; Fricke et al., 1998). Aunque la magnitud de la pérdida embrionaria en este estudio es mayor que las reportadas en estudios previos, el período sobre el cual fue valorado comienza más temprano en la gestación (26d a 33d). En un estudio previo (Vasconcelos et al., 1997), la pérdida de preñez en vacas lecheras en lactación fue de un 11% desde el día 28 al día 42, un 6% desde el día 42 al día 56 y de un 2% desde el día 56 al día 98 después de la IA, sugiriendo que las pérdidas de preñez son mayores en las etapas tempranas de preñez y disminuyen a medida que la gestación continúa.

Como las vacas diagnosticadas en un examen temprano por ecografía tienen mayor riesgo de pérdida embrionaria temprana, estas vacas deben someterse a subsecuentes exámenes de gestación para identificar y volver a inseminar las vacas que experimentaran esta pérdida. (Fricke, 2002). Si se dejan sin identificar vacas que sufrieran pérdida embrionaria temprana podría reducir la eficiencia reproductiva por aumento de los intervalos entre el parto y la concepción. Incorporar una pauta de confirmación de la gestación entre los días 61 y 68 de gestación dentro de un programa sistemático de sincronización y resincronización es imprescindible para identificar las vacas que sufrieron pérdida embrionaria

Protocolos que deberían funcionar pero deben ser empíricamente testados primero

Teniendo en cuenta el total de datos presentados hasta ahora, dos posibles programas de tratamiento hormonal con IATF que pueden funcionar bien en los ranchos son los que se muestran en las Tablas 10 y 11. Ambos planes incorporan elementos testados pero no plenamente testados como único plan en los ensayos clínicos de campo. Los dos planes incluyen una estrategia Presynch/Ovsynch para la primera inseminación a tiempo fijo (Moreira et al., 2000c; Navanukraw et al., 2004), con un intervalo de 72 h desde la inyección de $PGF_{2\alpha}$ a la segunda inyección de GnRH y una IA programada como primera IA (Stevenson, 2004) y para la resincronización, y un intervalo de 32 días desde la primera IA programada hasta el inicio del Resynch (Fricke et al., 2003). Se necesita investigar más para poder evaluar varios aspectos no testados de estos protocolos en lecherías en producción.

Tabla 10. . Posible programa de tratamiento hormonal con inseminación artificial a tiempo fijo para un protocolo Presynch/Ovsynch para la primera IA y Resincronización para la segunda IA basado en resultados de Fricke et al., 2003.

| Domingo | Lunes | Martes | Miercoles | Jueves | Viernes | Sabado |
|---------|-------|--------|-----------|--------|-----------|--------|
| | | PGF | | | | |
| | | PGF | | | | |
| | | GnRH | | | | |
| | | PGF | | | GnRH+IATF | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | GnRH | | | | |
| | | PG+PGF | | | GnRH+IATF | |

PGF = prostaglandina F_{2α}, **GnRH** = hormona liberadora de las gonadotropinas, **IATF** = inseminación artificial a tiempo fijo, **PG** = diagnostico de preñez.

Table 11. Posible programa de tratamiento hormonal con inseminación artificial a tiempo fijo para un protocolo Presynch/Ovsynch para la primera IA y Resincronización para la segunda IA basado en resultados de Fricke et al., 2003.

| Domingo | Lunes | Martes | Miercoles | Jueves | Viernes | Sabado |
|---------|-------|--------|-----------|--------|-----------|--------|
| | | | | | PGF | |
| | | | | | PGF | |
| | | GnRH | | | | |
| | | PGF | | | GnRH+IATF | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | GnRH | | | | |
| | | PG+PGF | | | GnRH+IATF | |

PGF = prostaglandina F_{2α}, **GnRH** = hormona liberadora de las gonadotropinas, **IATF** = inseminación artificial a tiempo fijo, **PG** = diagnostico de preñez.

Referencias

- Britt, J. S., and J. Gaska. 1998. Comparison of two estrus synchronization programs in a large, confinement-housed dairy herd. *JAVMA* 212:210-212.
- Burke, J. M., R. L. de la Sota, C. A. Risco, C. R. Staples, E. J. P. Schmitt, and W. W. Thatcher. 1996. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79:1385-1393.
- Cartmill, J. A., S. Z. El-Zarkouny, B. A. Hensley, G. C. Lamb, and J. S. Stevenson. 2001. Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. *J. Dairy Sci.* 84:1051-1059.
- Cordoba, M. C. and P. M. Fricke. 2001. Evaluation of two hormonal protocols for synchronization of ovulation and timed artificial insemination in dairy cows managed in grazing-based dairies. *J. Dairy Sci.* 84:2700-2708.

- Cordoba, M. C. and P. M. Fricke. 2002. Initiation of the breeding season in a grazing-based dairy using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 85:1752-1763.
- Dalton, J. C., S. Nadir, J. H. Bame, M. Noftsinger, R. L. Nebel, and R. G. Saacke. 2001. Effect of time of insemination on number of accessory sperm, fertilization rate, and embryo quality in nonlactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 84: 2413-2418.
- El-Zarkouny, S. Z., B. A. Hensley, and J. S. Stevenson. 2002. Estrus, ovarian, and hormonal responses after resynchronization with progesterone and estrogen in lactating dairy cows of unknown pregnancy status. *J. Dairy Sci.* 85(Suppl. 1):98 (Abstr).
- Fricke, P. M., D. Z. Caraviello, K. A. Weigel, and M. L. Welle. 2003. Fertility of dairy cows after resynchronization of ovulation at three intervals after first timed insemination. *J. Dairy Sci.* 86:3941-3950.
- Fricke, P. M. 2002. Scanning the future – Ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85:1918-1926.
- Fricke, P. M., J. N. Guenther, and M. C. Wiltbank. 1998. Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 50:1275-1284.
- Gümen, A., J. N. Guenther, and M. C. Wiltbank. 2003. Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:3184-3194.
- Jobst, S. M., R. L. Nebel, M. L. McGilliard, and K. D. Pelzer. 2000. Evaluation of reproductive performance in lactating dairy cows with prostaglandin F_{2α}, gonadotropin-releasing hormone, and timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 83:2366-2372.
- LeBlanc, S. J. and K. E. Leslie. 2003. Short Communication: Presynchronization using a single injection of PGF_{2α} before synchronized ovulation and first timed artificial insemination in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:3215-3217.
- Lewis, G. S. and M. C. Wulster-Radcliffe. 2001. Lutalyse can up-regulate the uterine immune system in the presence of progesterone. *J. Anim. Sci.* 79(Suppl 1.):116 (Abstr.).
- Macmillan, K. L. and A. M. Day. 1982. Prostaglandin F_{2α} - fertility drug in dairy cattle. *Theriogenology* 18:245-253.
- Mee, J. F., D. P. Ryan, and T. Condon. 1994. Ultrasound diagnosis of pregnancy in cattle. *Vet. Rec.* 134:532.
- Moreira, F., R. L. de la Sota, T. Diaz, and W. W. Thatcher. 2000a. 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.
- Moreira, F., C. A. Risco, M. F. A. Pires, J. D. Ambrose, M. Drost, and W. W. Thatcher. 2000b. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 83:1237-1247.
- Moreira, F., C. Orlandi, C. Risco, F. Lopes, R. Mattos, and W. W. Thatcher. 2000c. 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., C. Orlandi, C. A. Risco, R. Mattos, F. Lopes, and W. W. Thatcher. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:1646-1659.
- Navanukraw, C., L. P. Reynolds, J. D. Kirsch, A. T. Grazul-Bilska, D. A. Redmer, and P. M. Fricke. 2004. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* In press.

- Peters, M. W. and J. R. Pursley. 2002. Fertility of lactating dairy cows treated with Ovsynch after presynchronization injections of PGF_{2α} and GnRH. *J. Dairy Sci.* 85: 2403-2406.
- 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.
- Pursley, J. R., M. R. Kosorok, and M. C. Wiltbank. 1997a. 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. 1997b. 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., R. W. Silcox, and M. C. Wiltbank. 1998. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:2139-2144.
- Pursley, J. R., P. M. Fricke, H. A. Garverick, D. J. Kesler, J. S. Ottobre, J. S. Stevenson, and M. C. Wiltbank. 2001. NC-113 Regional Research Project. Improved fertility in anovulatory lactating dairy cows treated with exogenous progesterone during Ovsynch. *J. Dairy Sci.* (Midwest Branch ADSA Meetings, Des Moines, IA, Abstract 251 p. 63).
- Roche, J. F. 1976. Fertility in cows after treatment with a prostaglandin analogue with or without progesterone. *J. Reprod. Fert.* 46:341-345.
- Sartori, R. 2002. Ovarian function, circulating steroids, and early embryonic development in dairy cattle. Ph.D. Thesis, Univ. of Wisconsin, Madison.
- Savio, J. D., M. P. Boland, and J. F. Roche. 1990. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. *J. Reprod. Fert.* 88:581-591.
- Stevenson, J. S., Y. Kobayashi, and K. E. Thompson. 1999. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including OvSynch and combinations of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F_{2α}. *J. Dairy Sci.* 82:506-515.
- Stevenson, J. S. 2004. *Hoard's Dairyman*, January 10.
- Thatcher, W. W. and C. J. Wilcox. 1972. Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 56:608-610.
- Vasconcelos, J. L. M., R. W. Silcox, J. A. Lacerda, J. R. Pursley, and M. C. Wiltbank. 1997. Pregnancy rate, pregnancy loss, and response to heat stress after AI at two different times from ovulation in dairy cows. *Biol. Reprod.* 56(Suppl 1):140 (Abstr.).
- Vasconcelos, J. L. M., R. W. Silcox, G. J. Rosa, J. R. Pursley, and M. C. Wiltbank. 1999. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 52:1067-1078.
- Wulster-Radcliffe, M. C., R. C. Seals, and G. S. Lewis. 2001. Lutalyse alters the immune response in sows after intrauterine inoculation with bacteria. *J. Anim. Sci.* 79(Suppl. 1):115 (Abstr.).