

Efecto del tamaño del rodeo sobre la eficacia de un programa de sincronización de celos en base a prostaglandinas e inseminación artificial a celo detectado en vaquillonas Holando



Effect of herd size on the effectiveness of an estrus synchronization program based on prostaglandins and artificial insemination after a detected heat in Holstein heifers

Algorta I¹, Barbosa J¹, Sacco G²,
Cavestany D^{1*}

Recibido: 00/Mes/2013
Aprobado: 00/Mes/2013

RESUMEN

Se evaluó el efecto del tamaño del rodeo en la respuesta a un protocolo de sincronización de celos e inseminación artificial (IA) con prostaglandinas. Se utilizaron 821 vaquillonas de 2 y 3 años de edad, de raza Holando, distribuidas en dos rodeos uno con 621 vaquillonas (rodeo 1) y el otro con 180 vaquillonas (rodeo 2). El protocolo utilizado fue: Día 0: detección de celo e IA durante 6 días; Día 7: examen ginecológico y aplicación de prostaglandina F_{2α} (PG) a las hembras que no fueron inseminadas y tenían cuerpo lúteo (CL), seguida de detección de celo e IA; Día 18: 11 días después del primer tratamiento, segunda aplicación de PG a las vaquillonas no inseminadas, también con IA posterior. En general, el porcentaje de detección de celos (PDC) fue 88,2%, el porcentaje de concepción (PC) 66,5%, el porcentaje de preñez (PP) 59,0%. El PDC durante los 6 días de detección de celos fue 60,1% y luego de la primera administración de PG de 88,0% (P<0,08); luego de la segunda PG fue 36,6% (P<0,0001). El PC fue 65,9%, 68,1% y 61,3% respectivamente

SUMMARY

The effect of herd size on the response to a protocol of estrous synchronization and artificial insemination (AI) with prostaglandins was evaluated with 821 Holstein heifers 2-3 years old, distributed in two herds, one with 621 heifers (herd 1) and the other with 180 heifers (herd 2). The protocol used was: 0 day: heat detection and AI for 6 days; Day 7: gynecological examination and administration of prostaglandin F_{2α} (PG) to females that were not inseminated and had a corpus luteum (CL), followed by heat detection and AI; Day 18: 11 days after the first treatment, second PG administration to heifers not inseminated with subsequent AI. Overall, heat detection rate (HDR) was 88.2%, conception rate (CR) 66.5%, pregnancy rate (PR) 59.0%. HDR during the 6 days of heat detection was 60.1% and after the first administration of PG 88.0% (P<0.08); after the second PG 36.6% (P<0.0001). Herd size affected negatively HDR (86.4% in herd 1 vs. 94.4% in herd 2), but not CR or PR.

¹: DV, PhD, Departamento de Reproducción, Facultad de Veterinaria, UdelaR, Montevideo, Uruguay

²: DCV, ejercicio liberal * : Autor para correspondencia: daniel.cavestany@gmail.com

($P > 0,1$). El PP luego del celo natural fue 36,3%, luego de la primera PG de 59,0% y luego de la segunda 25,8% ($P < 0,0001$). El tamaño del rodeo influyó negativamente en el PDC (86,4% en el rodeo 1 vs. 94,4% en el rodeo 2) pero no en el PC ni en el PP. Los parámetros que presentaron una correlación significativa con el peso corporal fueron la cavidad del VI, SIV, PLVI, Ao y AI. A su vez la cavidad del VD en sístole y diástole, así como DPES no tuvieron correlación con el peso vivo de los animales.

PALABRAS CLAVE:

Vaquillonas Holando, sincronización de celos, prostaglandinas, detección de celo

INTRODUCCIÓN

La IA se utiliza en un alto porcentaje en rodeos de vaquillonas, siendo la detección de celos el mayor problema para lograr una buena eficiencia reproductiva (Foote, 1975; Larson y Ball, 1992) y la sincronización de celos es una herramienta común en programas de IA (Macmillan, 2010). Cuando se sincronizan celos con prostaglandinas (PG) se obtienen similares resultados de preñez que con celo natural (Stevenson y col., 2008). Si se utiliza solamente una PG al inicio del protocolo, no todos los animales responderán (Lauderdale, 2009) y los que responden los hacen en un lapso de tiempo de 6 días (Macmillan y Henderson, 1984). Esta variabilidad en el tiempo de inicio del celo luego de la inyección con PG se debe fundamentalmente al momento en el ciclo estral en que se encuentra el animal (Berardinelli y Adair, 1989; Watts y Fuquay, 1985). Los protocolos de IA con PG resultan en porcentajes de detección de celos superiores al 60% en cinco días, con tasas de concepción superiores al 70% (Rusiñol y Cavestany, 2011).

A pesar que la utilización de PG en vaquillonas es

KEYWORDS:

Holstein heifers, prostaglandins, estrus synchronization, heat detection

una práctica muy común en el país, existen muy pocos reportes sobre los resultados obtenidos. El objetivo del trabajo es evaluar el efecto del tamaño del rodeo sobre la eficacia de un programa de sincronización de celos en base a PG e IA a celo detectado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y metodología

El trabajo se realizó en dos predios comerciales de la misma empresa del departamento de Florida, Uruguay, que cuenta con un total de 3.636 Ha, con una dotación de 0,7 UG/Ha, manejados de manera similar. En el mes de mayo de 2009 se seleccionaron 821 vaquillonas de raza Holando, 641 en el predio 1 y 180 en el predio 2 que se consideraron aptas para la IA por superar los 320 kg de peso corporal y un estado corporal superior a 2,5 (Escala de 1 al 5). El protocolo de IA utilizado fue detección de celo durante 7 días, de mañana y de tarde por una hora cada vez e IA a los animales en celo según la regla AM/PM; los animales inseminados eran llevados a un potrero de descanso; el día 7 el veterinario responsable de la empresa realizó un examen ginecológico a los animales que no se inseminaron en ese período y a las hembras con CL se les administró, de forma intramuscular, 2 mL de un análogo de prostaglandina F2 α (PG) (800 μ g de delprostenate, Glandinex, Universal Lab, Montevideo, Uruguay). Se continuó con la detección de celo y la IA de manera similar y a los 11 días de la primera inyección de PG (Día 18 del inicio del protocolo) los animales se reagruparon en el mismo potrero y se administró una segunda dosis de PG a los animales que no presentaron celo durante ese período, esta vez sin examen ginecológico. Para la

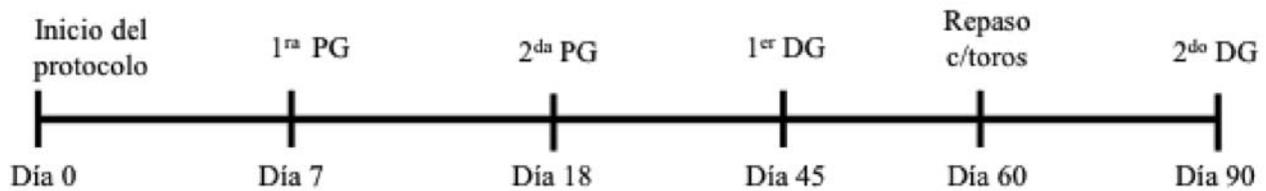


Figura 1. Esquema del protocolo de inseminación y del manejo reproductivo

IA se utilizó semen congelado importado de calidad certificada de cuatro toros el cual se distribuyó de forma uniforme y aleatoria en ambos predios. Cada predio fue manejado de manera independiente, cada uno con su propio personal y un inseminador experimentado en cada predio. La duración total de programa de IA fue 24 días, luego de lo cual se realizó un repaso con cuatro toros durante un mes (dos en cada predio) (Figura 1). El diagnóstico de gestación se realizó mediante ultrasonografía con transductor de 5 MHz (Aloka 500, Aloka, Tokio, Japón) en dos momentos, el primero a los 27 días de la segunda PG y el segundo a los 30 días de finalizado el repaso con toros para así poder determinar las preñeces por la IA y por monta natural.

Definición de parámetros de eficiencia reproductiva utilizados

Porcentaje de detección de celos (PDC):

Animales detectados en celo en 7 días dividido por total de animales ofrecidos y multiplicado por cien.

Porcentaje de concepción (PC):

Animales preñados dividido animales servidos y multiplicado por cien.

Porcentaje de preñez (PP):

Animales preñados dividido animales ofrecidos en 7 días y multiplicado por cien, o PDC x PC.

Porcentaje de preñez final (PPF):

Animales preñados dividido animales ofrecidos al final del período y multiplicado por cien.

Análisis estadístico

La distribución de celos se analizó por análisis de frecuencias y prueba de χ^2 (Proc Freq, SAS). Los parámetros de eficiencia reproductiva se analizaron por regresión logística (Proc Logistic, SAS), con rodeo como efecto principal, incluyendo predio e inseminador en el modelo. Este último factor no registró significancia estadística, por lo cual se eliminó del análisis final. Se definió el 5% como nivel de significancia.

RESULTADOS

Resultados generales en los dos rodeos

El porcentaje de detección de celo fue de 88,2%, el porcentaje de concepción fue de 66,5 %, el porcentaje de preñez fue de 59,0% y el porcentaje de preñez final obtenido con la IA más el repaso con toros fue del 90,6%. En el cuadro I se presenta el porcentaje de detección de celos (PDC), el porcentaje de concepción (PC) y el porcentaje de preñez (PP) en animales inseminadas luego de un celo natural (primeros 7 días) y luego del primer y segundo tratamiento con PG. El PDC de las vaquillonas inseminadas luego de un celo natural fue 60,1% y luego de la primera administración de PG de 88,0% ($P < 0,08$). El porcentaje de detección de celos luego de la segunda PG fue 36,6%, sensiblemente inferior

Cuadro I. Porcentaje de detección de celos (PDC), porcentaje de concepción (PC) y porcentaje de preñez (PP) de acuerdo al número de tratamientos con prostaglandina (PG)

PG ¹	n	PDC			PC			PP		
		%	OR ²	IC ³	%	OR ²	IC ³	%	OR ²	IC ³
0	311	60,1 ^a	2,62	1,62 – 4,23	65,9 ^d	1,22	0,76 – 1,97	36,3 ^e	1,64	0,98 – 1,97
1	417	88,0 ^b	12,73	7,61 – 21,32	68,1 ^d	1,35	0,85 – 1,97	59,0 ^f	4,14	2,49 – 6,85
2	93	36,6 ^c	1,0	Referente	61,3 ^d	1,0	Referente	25,8 ^g	1,0	Referente

¹: Tratamiento con PG: 0 = celo natural (días 0 a 7 del servicio); 1 = 1 PG; 2 = segunda PG

²: Odds Ratio, ³: Intervalo de confianza 95%,

^{a, b}: P<0,08; ^{b, c}: P<0,0001; ^d: P>0,01; ^{e, g}: P>0,1; ^{f, g}: P<0,0001

a los anteriores (P<0,0001). El PC fue en todos los casos superior al 60%, sin diferencias estadísticas entre grupos (P>0,1). El PP fue estadísticamente superior luego de la administración de la primera dosis de PG (P<0,0001), tanto en relación al grupo inseminado luego de celo espontáneo, como al grupo que recibió una segunda dosis de PG.

Respuesta al tratamiento por rodeo

No hubo diferencias significativas en cuanto a la proporción de animales que no recibieron PG y los que recibieron una y dos PG entre los dos rodeos (P>0,1). Se encontró un efecto del rodeo en la eficiencia de detección de celos tal como se muestra en la figura 2, donde se puede apreciar que en el rodeo con mayor número de animales ofrecidos la eficien-

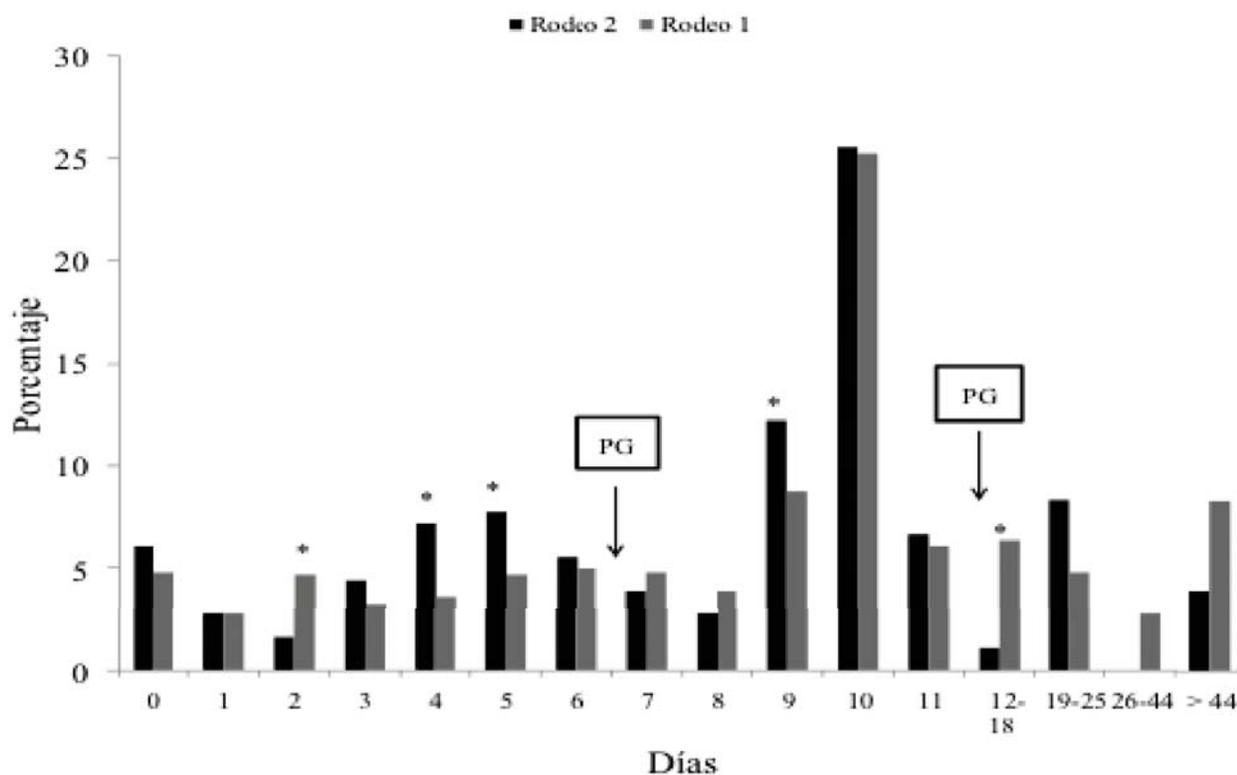


Figura 2. Distribución diaria de celos detectados en cada rodeo observado. Los asteriscos marcan diferencias entre rodeos en cada día (P<0,05).

cia de detección de celos en los primeros 6 días fue inferior al rodeo con menor número de animales. La respuesta a la administración de PG varió solamente a las 48 horas de administrada la hormona, detectándose un mayor número de vaquillonas en celo en el rodeo con menos animales sincronizados. La respuesta al segundo tratamiento con PG fue inversa al día siguiente al mismo, con más animales en celo en el rodeo 1.

Al analizar la eficiencia reproductiva por rodeo, se aprecian diferencias entre ellos, siendo el porcentaje de detección de celos en el rodeo con menor número de animales ofrecidos (rodeo 2) de 94,4% y en el rodeo 1 de 86,4% ($P < 0,05$). La concepción al primer servicio tendió a ser superior en el rodeo 1 que en el 2 ($P = 0,0557$); de la combinación de estos dos índices, surge que el PP fue igual en ambos rodeos ($P = 0,5934$) (Cuadro II).

El porcentaje de preñez final fue de 93,3% en el rodeo 1 y de 89,9% en el rodeo 2, no difiriendo estadísticamente ($P > 0,1$).

De los animales que repitieron el celo durante la IA, el 77,5% lo hizo a un intervalo normal de 17 a 24 días, un 8,7% a un intervalo menor a 17 días y un 13,9% tuvo ciclos largos de más de 24 días.

DISCUSIÓN

Seleccionar los parámetros adecuados para evaluar la respuesta a un determinado protocolo significa considerar las variables que logren dicho objetivo y escoger aquellas más adecuadas para cada situación. Ferguson y Galligan (1993) consideran que el mejor parámetro a utilizar en un programa de inseminación artificial es el porcentaje de preñez, que mide el total de preñeces logradas por unidad de tiempo y combina la eficiencia de la detección de celos (PDC) con la fertilidad (PC). Estos autores recomiendan calcular estos índices cada 21 días, la duración aceptada de un ciclo estral, lo que permite que, cuando no se interviene en la duración del ciclo estral, todos los animales involucrados tengan oportunidad de mostrar un celo espontáneo. En este trabajo este intervalo se calculó en 7 días, ya que fue el lapso en que se realizaron las intervenciones. Esto permitió una evaluación más precisa de lo ocurrido en los períodos de tiempo analizados, es decir la ocurrencia de celos espontáneos durante los primeros seis días de trabajo y luego del primer y segundo tratamiento con PG.

La detección de celos por seis días al comienzo de

Cuadro I. Porcentaje de detección de celos (PDC), porcentaje de concepción (PC) y porcentaje de preñez (PP) de acuerdo al número de tratamientos con prostaglandina (PG)

Rodeo	n	PDC			PC			PP		
		%	OR ¹	IC ²	%	OR ¹	IC ²	%	OR ¹	IC ²
1	641	86,4 ^a	2,67	1,36 – 5,25	68,2 ^c	0,72	0,51 – 1,01	59,4 ^d	0,91	0,65 – 1,28
2	180	94,4 ^b	1,0	Referente	60,6 ^c	1,0	Referente	57,2 ^d	1,0	Referente

¹: Odds Ratio, ²: Intervalo de confianza 95%, ^{a, b}: $P = 0,0045$; ^c: $P = 0,0562$; ^d: $P = 0,5934$

un trabajo de IA permite inseminar a celo natural a animales que están en el diestro tardío a la vez que permite que aquellas hembras en metaestro o diestro temprano al inicio del trabajo se encuentren en una etapa del ciclo estral receptivo a la PG al momento de la administración de ésta (Lauderdale, 2009). Esta combinación dio buenos resultados, logrando inseminarse casi el 90% de las vaquillonas en un corto período de tiempo. La ventaja del ahorro de dosis de PG contra los costos de un programa más prolongado, es un aspecto que debe considerarse en cada situación en particular. La inyección de PG a los animales antes del día 5 o 6 del ciclo estral es inefectiva o tiene poca respuesta (Gigli et al., 2006; Tanabe y Hann, 1984). También es inefectiva en el diestro tardío a partir del día 17 dado que ya ha comenzado la luteolisis de forma natural.

Los resultados globales de este trabajo fueron similares a los reportados por de Nava (2004), de Nava y col. (2008) y Rusiñol y Cavestany (2011) en Uruguay, así como en otros países (Schilling y col., 1982; Tanabe y Hann, 1984; Chebel y col., 2007). El porcentaje de detección de celos diario en los primeros días fue el esperado en un rodeo en el que los animales están ciclando (Smalley, 1981) y fue similar a los reportados por Rusiñol y Cavestany (2011). Luego de la primer administración de PG la distribución de los celos fue similar a la encontrada por Gonzalez y col. (1985) y Wahome y col. (1985) según los cuales los animales respondieron a la PG entre 23% a 30% a las 48 h, 45,6% a 47% lo hizo a las 72 h y entre 14,3% y 15,4% a las 96 h pos tratamiento; por otra parte, el “pico” de celos ocurrió un poco antes de lo reportado por Donaldson (1977) y de Nava y col. (2008) quienes encontraron que la mayor respuesta a la PG se obtuvo entre el cuarto y sexto día post PG. Kastelic et al. (1990) y Kastelic y Ginther (1991), utilizando ultrasonografía, determinaron que el intervalo entre el tratamiento con PG y la expresión del celo y la ovulación depende del estado de desarrollo del

foliculo dominante al momento del tratamiento. Si la PG es aplicada cuando el foliculo dominante se encuentra en la última etapa de crecimiento o en la fase estática temprana, la ovulación ocurrirá dentro de los 3 a 4 días (4,2 media) posteriores. En cambio, cuando el foliculo dominante se encuentra en la fase estática media o tardía, la ovulación ocurrirá por parte del foliculo dominante de la siguiente onda folicular 5 a 7 días (6,3) posteriores. Esto es debido a que el foliculo en etapa estática media y tardía ya no es más viable por lo que el aumento del intervalo se debe a que el foliculo dominante de la nueva onda debe crecer hasta el tamaño preovulatorio. Por todo esto se explica la variabilidad en los intervalos entre la inyección de PG y la ovulación, por lo que es necesario realizar una correcta detección de celo para obtener altos porcentaje de preñez en los programas de IA sincronizados con PG (Bó et al., 2002; Kastelic y Ginther, 1991).

El mayor porcentaje de detección de celos en las vaquillonas que recibieron una PG sobre las que no recibieron ninguna PG concuerda con otros reportes y se debe a una mayor facilidad de detectar celo en una población sincronizada (Stevenson y col., 2008). También puede deberse a que el incremento de animales en celo al mismo tiempo debido a la sincronización, aumenta la intensidad de la manifestación del celo y por ende la posibilidad de detectarlo (Cavestany y col., 2008; Floyd y col., 2009). En los animales que recibieron una segunda dosis de PG se registró una marcada disminución del porcentaje de detección de celos. Es importante notar que, previo a esta administración, no se realizó un examen ginecológico de las vaquillonas por lo que no se puede descartar que un número de estos animales no presentaran cuerpo lúteo. Tampoco se puede descartar que estos animales presentaran celos más cortos o menos manifiestos, dificultando su detección, problema que ha sido reportado en vacas

(Plunkett y col., 1984).

El porcentaje de concepción de los animales detectados en celo de forma natural y los sincronizados con PG no fue significativamente diferente, sugiriendo que la fertilidad del celo natural y del celo sincronizado con PG es similar (Butler y Balcarce, 1989; Stevenson y Pursley, 1994; Stevenson y col., 2008). El porcentaje de preñez, calculado como fue oportunamente definido, fue superior en los animales que recibieron un tratamiento con PG debido fundamentalmente a un mayor número de vaquillonas detectadas e inseminadas, como ya fuera reportado (Rusiñol y Cavestany, 2011).

El tamaño del rodeo afectó significativamente los resultados reproductivos. Es así que en el rodeo en que se ofrecieron más animales, el porcentaje de detección de celos fue significativamente menor. Esto ha sido demostrado en vacas (Cavestany y Galina, 2001) pero no hemos encontrado antecedentes en vaquillonas.

CONCLUSIONES

El tamaño del rodeo afectó significativamente la eficiencia de la sincronización. La combinación de detección de celos durante 6 días con la administración de PG permitió la inseminación de casi el 90% de los animales en un relativamente corto período. Una segunda administración de PG a animales no detectados en celo de forma natural o luego de una primera administración de PG debe ser considerada cuidadosamente, considerando el bajo número de animales que pueden responder y los costos de prolongar un trabajo por más de 2 semanas.

BIBLIOGRAFÍA

- Berardinelli JG, Adair R. (1989). Effect of prostaglandin F2 alpha dosage and stage of estrous cycle on the estrous response and corpus luteum function in beef heifers. *Theriogenology* 32:301-314.
- Bó GA, Baruselli PS, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tríbulo R, Tríbulo H, Mapletoft RJ. (2002). The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer program in cattle. *Theriogenology*; 57:53-72.
- Butler H, Balcarce A. (1989). Evaluación de la distribución temporal y fertilidad de los celos en vaquillonas Hereford con una dosis reducida de delprostenate. *Cabia* 15:40-44.
- Cavestany D, Galina CS. (2001). Factors affecting the reproductive efficiency of artificial insemination programmes in a seasonal breeding pasture based dairy system with the aid of milk progesterone. *Reprod Dom Anim* 36:85-90.
- Cavestany D, Fernandez M, Perez M, Tort G, Sanchez A, Sienna R. Oestrus behaviour in heifers and lactating dairy cows under a pasture-based production system. *Vet. Quarterly* 2008; 30(Suppl. 1):10-36.
- Chebel RC, Braga FA, Dalton JC. (2007). Factors affecting reproductive performance of dairy heifers. *Anim Reprod Sci* 101:208-224.
- de Nava G. (2004). Resultados en programas de inseminación artificial de vacunos implementados durante la temporada 2003-2004 en estancias ganaderas comerciales del Uruguay. XXXII Jornadas uruguayas de buiatría. Paysandú. Uruguay. pp 61-66.
- de Nava G, Arrospide A, Delgado E, de Paula R, Cavestany D. 2008. Efecto de la administración parenteral de vitaminas y minerales sobre la fertilidad de vaquillonas de carne inseminadas artificialmente. *Veterinaria (Uruguay)* 43:9-14.
- Donaldson LE. (1977). Synchronisation of oestrus in beef cattle artificial breeding programs using prostaglandin F2alpha. *Aust Vet J* 53:72-77.
- Ferguson SD, Galligan DT. (1993). Reproductive programs in dairy herds. *Proc. Central Veterinary*

- Conference, Kansas, USA, p. 161-178.
11. Floyd L, Lents C, White F, Wettemann R. (2009). Efecto de número de vacas en estrus y confinamiento en el comportamiento de vacas de carne. *J Anim Sci*. 87:1998-2004.
 12. Foote RH. (1975). Estrus detection and estrus detection aids. *J Dairy Sci*; 58, 248-256.
 13. Gigli I, Russo A, Agüero A. (2006). Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino, y camélidos sudamericanos. *Rev Inv Vet* 8:1:22.
 14. Gonzalez LV, Fuquay JW, Bearden HJ. (1985). Insemination management for a one-injection prostaglandin F(2)alpha synchronization regimen. I. One daily insemination period versus use of the a.m./p.m. rule. *Theriogenology* 24:495-500.
 15. Kastelic JP, Ginther OJ. (1991). Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. *Anim Reprod Sci* 26:13-24
 16. Kastelic JP, Knopf L, Ginther OJ. (1990). Effect of day of prostaglandin F2 α treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. *Anim Reprod Sci* 23:169-180.
 17. Larson LL, Ball PJH. (1992). Regulation of estrus cycles in dairy cattle: a review. *Theriogenology* 38:255-267.
 18. Lauderdale JW. (2009). ASAS centennial paper: Contributions in the Journal of Animal Science to the development of protocols for breeding management of cattle through synchronization of estrus and ovulation. *J Anim Sci*. 87:801-812.
 19. Macmillan KL. (2010). Recent advances in the synchronization of estrus and ovulation in dairy cows. *J Reprod Dev* 56 Suppl:S42-47.
 20. Macmillan KL, Henderson HV. (1984). Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F2 α to estrus as a method of studying patterns of follicle development during diestrus in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 6:245-254.
 21. Plunkett SS, Stevenson JS, Call EP. (1984). Prostaglandin F2 alpha for lactating dairy cows with a palpable corpus luteum but unobserved estrus. *J Dairy Sci*. 67:380-387.
 22. Rusiñol C, Cavestany D. (2011). Comparación de tres métodos de sincronización de celos y ovulaciones con y sin inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en vaquillonas para carne. *Veterinaria (Uruguay)* 47:25-30.
 23. Schilling E, Jochle W, Smidt D. (1982). Estrous cycle synchronization in dairy heifers with the prostaglandin analog alfaprostol (II). *Theriogenology* 18:413-422.
 24. Smalley SA. (1981). Management problems of large dairies. *Vet Clin North Am Large Anim Pract*. 3:289-305.
 25. Stevenson JL, Rodriguez JA, Braga FA, Bitente S, Dalton JC, Santos JE, Chebel RC. (2008). Effect of breeding protocols and reproductive tract score on reproductive performance of dairy heifers and economic outcome of breeding programs. *J Dairy Sci* 91:3424-3438.
 26. Stevenson JS, Pursley JR. (1994). Use of milk progesterone and prostaglandin F2 alpha in a scheduled artificial insemination program. *J Dairy Sci* 77:1755-1760.
 27. Tanabe TY, Hann RC. (1984). Synchronized estrus and subsequent conception in dairy heifers treated with prostaglandin F2 α and influence of stage of the cycle at treatment. *J Anim Sci* 58:80-85.
 28. Wahome JN, Stuart MJ, Smith AE, Hearne WR, Fuquay JW. (1985). Insemination management for a one-injection prostaglandin F(2)alpha synchronization system. II. One versus two inseminations following detection of estrus. *Theriogenology*; 24(5):501-7.
 29. Watts TL, Fuquay JW. (1985). Response and fertility of dairy heifers following injection with prostaglandin F(2 alpha) during early, middle or late diestrus. *Theriogenology* 23:55-61.