

CONCENTRACIONES DE PROGESTERONA SERICA EN CABRAS SUPEROVULADAS CON FSH O PMSG FUERA DE LA EPOCA REPRODUCTIVA^a

Armando Córdova Santamaría^b

Fermín Jiménez Krasel^c

José Juan Hernández Ledezma^d

RESUMEN

Los objetivos fueron determinar el patrón de liberación de progesterona (P4) en cabras superovuladas con FSH, PMSG o PMSG más anticuerpos monoclonales (ACM) contra la PMSG; y si existe alguna asociación entre las concentraciones de P4 el día de la colección embrionaria con el número de cuerpos lúteos (CL) o con el de embriones colectados. Se utilizaron 26 cabras de raza Alpina sin cría que fueron inducidas al estro con acetato de fluorogestona (FGA). Los tratamientos superovulatorios fueron: I) 1100 UI de PMSG; II) 1100 UI de PMSG más ACM contra la PMSG; III) 14 mg de FSH. La colección de los embriones se realizó al quinto día después del servicio mediante el método quirúrgico. A fin de determinar las concentraciones de P4 sérica se tomaron muestras sanguíneas en los días: -18 y -4 (Periodo del implante); al momento del estro, a las 12 h después de su inicio y a las 24 h del mismo (Periodo de estro); en los días 5, 9 y 13 (Periodo de fase lútea); y posteriormente cada cuatro días hasta la presentación del siguiente estro (Periodo posterior a la fase lútea). El día del estro se consideró el día 0 del estudio. El promedio de CL fue de 4.1, 5.4 y 13.9 para los tres grupos respectivamente, siendo superior ($P < 0.05$) el último valor. El promedio de embriones totales fue: 2.3, 3 y 9.7 para los tratamientos I, II y III, respectivamente, siendo mayor ($P < 0.05$) el tercero. Las concentraciones de P4 durante la fase lútea fueron: 5.7, 2.9 y 3.3 ng/ml para los grupos I, II y III respectivamente, detectándose diferencia ($P < 0.05$) en favor del primero. Las concentraciones de P4 detectadas el día de la colección embrionaria tuvieron correlación significativa con el número de CL ($r = 0.46$), con el total de embriones colectados ($r = 0.50$) y con el de embriones transferibles ($r = 0.48$). Se concluye que en cabras, la FSH induce un número mayor de ovulaciones y embriones que la PMSG sola o con ACM. Puesto que las cabras inyectadas con PMSG tuvieron menos ovulaciones y embriones, pero concentraciones de P4 más altas que las que recibieron FSH; una segunda conclusión es que la predicción de la respuesta a diferentes tratamientos superovulatorios a partir de la P4 sérica es poco precisa en cabras.

Téc. Pec. Méx. Vol. 30 No. 3 (1992)

INTRODUCCION

La determinación de perfiles hormonales durante y después de la superovulación ha llevado a un mejor entendimiento de la respuesta ovárica a la estimulación con hormonas gonadotrópicas en bovinos. Esto ha hecho posible tomar ciertas alternativas pa-

ra tratar de mejorar dicha respuesta. Estudios realizados en esa especie indican que las concentraciones plasmáticas de esteroides se alteran debido a los tratamientos superovulatorios²², encontrando que las concentraciones de progesteron (P4) son muy elevadas después de ocurrir las ovulaciones múltiples. Algunos autores mencionan que existe una relación positiva importante entre las concentraciones de ese esteroide y el número de embriones recuperados^{16,25}.

En el ganado caprino son escasos los estudios al respecto,^{3,12} por lo que se considera importante cuantificar la relación entre las concentraciones de progesterona y

a Recibido para su publicación el 21 de octubre de 1991.

b Campo Experimental Forestal y Agropecuario de Morelia, INIFAP, Teniente Isidro Alemán No. 294, Morelia, Mich.

c CENID Microbiología, Laboratorio de Endocrinología, INIFAP, Palo Alto, México.

d CENID Fisiología, INIFAP, Ajuchitlán, Qro.

número de embriones colectados. De este modo, podría evitarse la cirugía en aquellas hembras con respuesta nula o inadecuada.

Los objetivos de este estudio fueron determinar, bajo tres regimenes de superovulación, el patrón de liberación de progesterona en cabras superovuladas fuera de la época reproductiva, y si existe alguna asociación entre las concentraciones de P4 el día de la colección embrionaria y el número de cuerpos lúteros (CL) o el de embriones recuperados.

MATERIALES Y METODOS.

El estudio se realizó en el centro caprino de Indaparapeo, Mich., bajo condiciones de clima templado²⁹, durante el periodo del primero de mayo al 15 de agosto de 1990. Se utilizaron 26 cabras de raza Alpina sin cría. Durante tres muestreos previos al estudio, en algunos animales se detectaron variaciones en sus concentraciones de P4, lo que se consideró indicativo de actividad ovárica, a pesar de estar en la estación no reproductiva. Por ello, y a fin de homogenizar el lote experimental, se aplicaron 1.9 mg de luprostiol ("Prosolvin", Lab. Intervet de México) por vía submucosa intravulvar a todos los animales. Como parte del diseño experimental, inmediatamente después de la aplicación del luprostiol se aplicaron esponjas intravaginales impregnadas con 45 mg de acetato de fluorogestona ("Cronoget" Lab. Intervet de México) para inducir y sincronizar el estro durante la superovulación. Las esponjas permanecieron 16 días y cuarenta y ocho horas; antes de retirarlas se aplicaron los siguientes tratamientos superovulatorios: I) (n=8), aplicación intramuscular (IM) de 1100 UI de Gonadotropina Sérica de Yegua Preñada (PMSG; "Folligon", Lab. Intervet de México); II) (n=9), similar al anterior más la aplicación por vía endovenosa de anticuerpos monoclonales (ACM) contra la PMSG a las seis horas del estro; la dosis empleada de ACM ("Neutra-PMSG, Lab. Intervet de México) fue de 5 ml de una solución estandarizada capaz de inhibir a 3000 UI PMSG. III) (n=9), administración IM de

una dosis total de 14 mg de Hormonas Foliculo Estimulante (FSH, "FSH", Lab. Sheering de México), la cual se dividió en ocho fracciones decrecientes (3,3,2,2,1,1,1 y 1 mg), aplicando cada una de ellas a intervalos de 12 horas.

El día del retiro de la esponja se inició la detección de estros, realizándose durante cinco días a intervalos de seis horas y durante una hora en cada ocasión. Una hembra fue considerada en estro cuando permitió la monta homo o heterosexual, y el final del mismo se consideró cuando la conducta anterior se ausentó. Se utilizaron cuatro machos de las razas Alpina y Nubia para dar monta natural controlada, los cuales también fungieron como machos celadores. En cada período de detección de estros se introdujeron los machos en forma alterna, permitiéndoles una sola monta a cada cabra detectada en estro. Durante todo el período de estro cada donadora recibió una sola monta a las 0 y 12 horas de iniciado el mismo.

La colección de los embriones se realizó al quinto día del estro (día cero) mediante el método quirúrgico y empleando sondas de Foley, como ha sido descrito anteriormente¹⁰. Antes de iniciar la colección embrionaria se registró el número de CL y de folículos en forma visual.

A fin de detectar las concentraciones séricas de P4, se tomaron muestras sanguíneas durante los siguientes periodos: al momento de insertar las esponjas (día - 18), al iniciar los tratamientos superovulatorios (día - 4), al detectarse el estro (día cero), a las 12 y a las 24 horas del estro, el día de la colección de los embriones (día 5) y posteriormente cada cuatro días hasta observar el siguiente estro. Después de tomar la muestra se permitió la separación del suero, posteriormente éste fue centrifugado y almacenado a -20 C hasta su análisis por radioinmunoensayo; el tipo de antisuero utilizado así como la validación del mismo han sido descritos por Jiménez y col.¹⁷. Los coeficientes de variación inter e intra-análisis fueron de 11.8 y 8.7%, respectivamente, la sensibilidad de la prueba fue de 12.5

pg/tubo. Para el análisis estadístico de los datos de P4, se consideraron cuatro períodos durante el estudio: a) Período de implante (días -18 y -4); b) período de estro (0, 12 y 24 h del estro); c) fase lútea (del día 5 al día 13); d) posterior a la fase lútea (del día 14 hasta la manifestación del siguiente estro). Se consideró que el día 13 fue el final de la fase lútea debido a que en el muestreo posterior a ese día las concentraciones de P4 fueron inferiores a 1 ng/ml.

Para el análisis estadístico de los datos se realizó un análisis de varianza en un arreglo factorial anidado con rompimiento en tiempo ¹, utilizando el siguiente modelo:

$$Y_{ijkl} = U + T_i = A(i)j + P_k + TP_{ik} + e(i)jklm$$

donde:

Y_{ijkl} = concentración de progesterona asociada al i-ésimo tratamiento, j-ésimo animal dentro de tratamiento, al k-ésimo período de muestreo.

U = Media de la población.

T_i = Efecto del i-ésimo tratamiento.

$A(i)j$ = Efecto del j-ésimo animal anidado en el i-ésimo tratamiento.

P_k = Efecto del k-ésimo período de muestreo.

TP_{ik} = Efecto de la interacción del i-ésimo tratamiento con el k-ésimo período de muestreo.

$e(i)jkl$ = error aleatorio NID (0,).

Para determinar la asociación entre concentraciones de P4 y número de CL o de embriones, se utilizaron los coeficientes de correlación de Pearson ¹

RESULTADOS Y DISCUSION.

En el Cuadro 1 se muestran las medias de cuadrados mínimos del número de CL y de

óvulos y embriones (totales y transferibles) obtenidos con los diferentes tratamientos superovulatorios. Como se observa, la respuesta superovulatoria obtenida con la FSH fue mayor ($P < 0.05$) a la de la PMSG, con o sin los anticuerpos monoclonales. Estos resultados concuerdan con las observaciones hechas en cabras por Armstrong y col. ^{3,4}, en el sentido de que la FSH provoca una mayor respuesta ovárica en comparación con la PMSG.

En este estudio los ACM no mejoraron el número ni la calidad de los embriones, lo que coincide con algunos trabajos realizados en bovinos ^{6,8,13}. Es importante mencionar que con los anticuerpos contra la PMSG se pretende inhibir la PMSG residual que se encuentra después de que se ha ocurrido el pico preovulatorio de gonadotropinas, a fin de impedir el estímulo para un desarrollo folicular posterior y por lo tanto, un ambiente estrogénico desfavorable para la fertilización y el desarrollo embrionario. Así, se supone que al haber un medio hormonal más propicio, en comparación con el uso de la PMSG sola, el número de óvulos que se fertilicen y desarrollen aumentará, incrementándose indirectamente el número de embriones transferibles ²⁴. Sin embargo, el número de ovulaciones es una respuesta directa de la dosis de PMSG, por lo que si dicha respuesta es pobre, el efecto que se busca con los anticuerpos no podrá apreciarse en forma significativa. Por otro lado, la variación en la respuesta ovárica a la PMSG es grande ¹¹, y quizás a ello se deban los resultados contrastantes que se observan en diferentes estudios cuando se utilizan anticuerpos contra la PMSG, ya sea monoclonales o policlonales ^{6,8,13,24}.

Es importante señalar que el promedio de óvulos más embriones obtenido con FSH en el presente trabajo, es ligeramente inferior al mencionado por otros autores ^{4,14,31}, quienes obtuvieron de 11 a 13 embriones y óvulos, empleando una preparación comercial conocida como Follitropin, cuya relación de FSH:LH es de 5:1 ³². Por el contrario en el resto de las preparaciones comerciales de FSH, como la utilizada en

CUADRO 1. MEDIAS DE CUADRADOS MINIMOS Y ERROR ESTANDAR DEL NUMERO DE OVULOS Y EMBRIONES COLECTADOS CON DIFERENTES TRATAMIENTOS SUPEROVULATORIOS.

VARIABLE	GRUPOS*		
	I (PMSG)	II (PMSG + ACM)	III (FSH)
Cuerpos Lúteos	4.1 + 1.5 a	5.4 + 1.4 a	13.9 + 1.4 b
Ovulos y embriones	2.4 + 2.0 a	3.8 + 1.9 a	11.6 + 1.9 b
Total de embriones	2.3 + 2.1 a	3.0 + 2.0 a	9.7 + 2.0 b
Embriones transferibles	2.0 + 2.1 a	2.9 + 2.0 a	9.6 + 2.0 b

a, b Literales distintas en el mismo renglón indican valores diferentes ($P < 0.05$).

*PMSG = Gonadotropina sérica de yegua preñada; ACM = Anticuerpos monoclonales contra PMSG; FSH = Hormona foliculo estimulante.

este estudio, la relación entre FSH y LH se desconoce y generalmente es más reducida⁹. Altas cantidades de LH en la preparación tienen un efecto inhibitorio en la respuesta ovulatoria²⁰, mientras que su disminución resulta en un incremento en el número de embriones colectados⁹. Schmidt y col.²⁷, mencionan que una relación de 5:1 de FSH:LH es la adecuada para obtener una buena respuesta superovulatoria. Por lo tanto, una posible causa de la diferencia entre los resultados del presente trabajo y de los autores anteriormente citados, puede atribuirse a la distinta preparación de FSH utilizada.

En el cuadro 2 se presentan las concentraciones de P4 en las diferentes etapas del estudio, observándose que el tratamiento con PMSG sola, resultó en mayores cantidades ($P < 0.05$) de P4 durante la fase lútea, en comparación con los grupos restantes. En los demás períodos del estudio no hubo diferencias ($P > 0.05$) entre ninguno de los tratamientos.

Resulta difícil explicar por qué las cabras que recibieron PMSG sola tuvieron mayores concentraciones de progesterona que las tratadas con FSH, a pesar de tener un número significativamente menor de CL.

Los grupos con menores concentraciones de P4 en la fase lútea fueron aquellos en

donde teóricamente ya no existen residuos de las gonadotropinas exógenas durante el período del pico preovulatorio, que pudieran promover el desarrollo folicular. Lo anterior es debido por un lado, a los ACM (grupo II) los cuales inactivan a la PMSG en un lapso de una hora después de su aplicación⁸, y por otro, a la corta vida media de la FSH en sangre (grupo III que es de cuatro horas²). De hecho, el grupo que únicamente recibió PMSG tuvo un número mayor ($P < 0.05$) de quistes foliculares ($2.13 + 0.6$), en comparación con los grupos tratados con PMSG y ACM ($0.44 + 0.5$) o con FSH ($0.6 + 0.5$). Por ello, la mayor concentración de P4 observada en el grupo II, quizás pueda deberse a la inducción de procesos luteinizantes de algunas estructuras foliculares desarrolladas después del estro, ambos eventos causados por la PMSG circulante. Callesen y col.⁷, mencionan que la PMSG puede inducir luteinización e incluso ovulación en folículos antrales grandes y contribuir con incrementos en las concentraciones de P4.

Aunado a lo anterior, se ha observado que en cabras superovuladas se libera prostaglandina F2 alfa (PGF2) alrededor del tercer día del estro, la cual además de provocar la regresión prematura de algunos CL^{5,12}, también podría disminuir la secreción de progesterona. Horton y Poyser¹⁵, citan que

CUADRO 2. MEDIAS DE CUADRADOS MINIMOS DE LAS CONCENTRACIONES DE PROGESTERONA SERICA (ng/ml) EN CABRAS SUPEROVULADAS CON PMSG, FSH O PMSG Y ACM DURANTE DIFERENTES ETAPAS DEL ESTUDIO.

PERIODO DE MUESTREO	GRUPOS*		
	I (PMSG)	II (PMSG + ACM)	III (FSH)
IMPLANTE	0.34 + 0.74	0.17 + 0.61	0.19 + 0.65
ESTRO	0.46 + 0.43	0.27 + 0.35	0.24 + 0.39
FASE LUTEA	5.75 + 0.48 ^a	2.99 + 0.37 ^b	3.32 + 0.41 ^b
FASE POST LUTEA	0.51 + 0.53	0.89 + 0.37	0.10 + 0.37

Error estandard de la media = 0.11

a, b Valores con distinta literal en el mismo renglón son diferentes entre si ($P < 0.05$).

*PMSG = Gonadotropina sérica de yegua preñada; ACM = Anticuerpos monoclonales contra PMSG; FSH = Hormona foliculo estimulante.

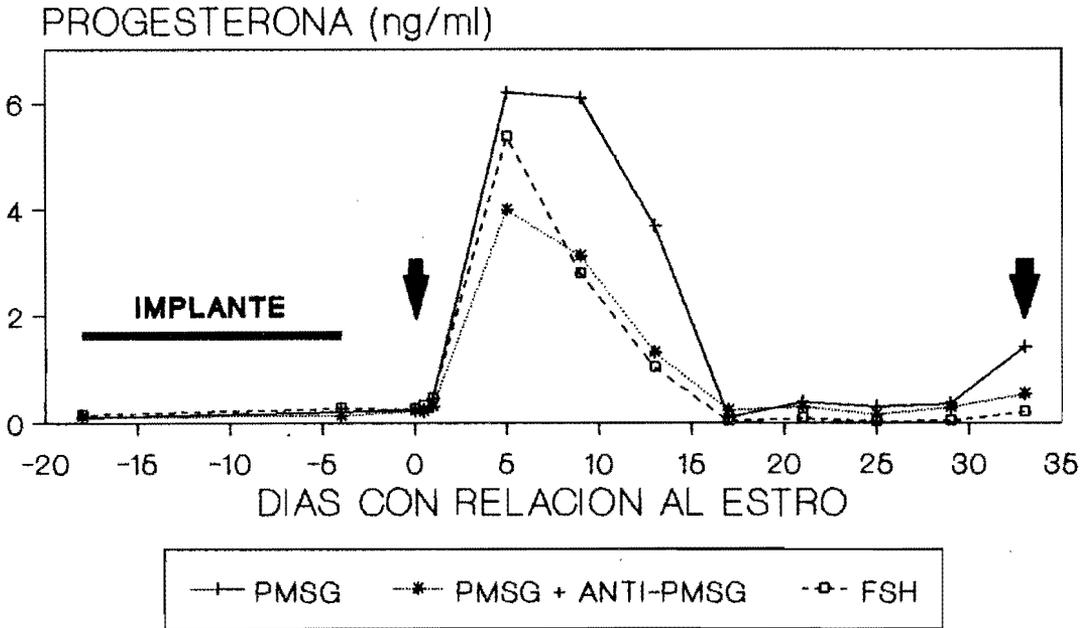
la PGF2 puede causar una reducción en la producción de P4 aún sin afectar irreversiblemente la estructura del CL. De esta manera, aunque en los tres grupos ocurra este evento, en los animales tratados con PMSG sola, los folículos luteinizados o los quistes luteinicos formados podrían contribuir con un aumento en la producción de P4 con relación a cabras tratadas con PMSG y ACM o FSH. Los resultados obtenidos en este estudio indican que las concentraciones séricas de P4 no siempre son útiles para predecir el número de ovulaciones o el número de embiones inducidos por tratamientos superovulatorios, particularmente cuando se usan diferentes agentes hormonales.

En la Gráfica I se muestra el patrón de liberación de P4 para los distintos tratamientos. Como puede apreciarse, las concentraciones de P4 durante los períodos del implante (días -18 y -4) y del estro (día cero), se mantuvieron en valores basales y sin diferir entre los tres grupos. En otras especies superovuladas con PMSG o FSH se ha observado un incremento en las concentraciones de P4 durante el estro^{23,30}, lo cual no fue observado en este estudio. En todos los tratamientos, los valores más elevados de P4 se observaron durante el día de la colección embrionaria (día 5), volviendo a concentraciones menores a 1 ng/ml para el

día 17. Como se mencionó anteriormente, los valores de la fase lútea del grupo I fueron significativamente mayores a los de los tratamientos restantes.

Una vez que las concentraciones de P4 descendieron a niveles basales alrededor del día 17, los animales de los grupos I, II y III tardaron en promedio: 15, 16 y 18 días respectivamente, en presentar el siguiente estro. De hecho, el intervalo entre estro y estro fue de 32 + 3.6, 33 + 1.2 y 35 + 2.5 días, para los tres grupos respectivamente y sin ser diferentes entre si ($P > 0.05$). Ello sugiere que las cabras entraron en un período de escaso crecimiento folicular, ya que aquellas que no se superovulan y que se encuentran ciclando tardan entre cuatro y cinco días en retornar al estro después de la caída de P4²¹. El retardo en la manifestación del estro también se ha observado en ganado superovulado^{16,28}; la actividad folicular ovárica después de la superovulación permanece disminuida en ganado con varios CL¹⁹. Este efecto sugiere un papel regulador del CL sobre el desarrollo folicular. Aunque durante el ciclo estral normal en bovinos, el crecimiento folicular es estimulado en el ovario que contiene el CL²⁶, en ganado tratado con gonadotropinas y con varios CL, eso no sucede¹⁹. En este último caso las elevadas concentraciones de P4

Figura 1. Concentración de Progesterona Sérica en Cabras Superovuladas con FSH, PMSG o PMSG más anti-PMSG.



La flecha indica el inicio del estro.

pueden tener un efecto de retroalimentación negativa sobre la secreción de la hormona luteinizante (LH), lo cual podría atenuar el desarrollo folicular¹⁹ y retardar el estro.

Las concentraciones de P4 detectadas el día de la colección de los embriones se asociaron con el número de CL ($r = 0.46$; $P < 0.03$), número total de embriones colectados ($r = 0.50$; $P < 0.02$) y el número total de embriones transferibles ($r = 0.48$; $P < 0.02$).

Las relaciones arriba señaladas han sido mencionadas por otros autores durante la superovulación en bovino; Saumande y col.²⁵, observaron una correlación significativa entre el contenido de progesterona en la leche y la tasa de ovulación desde el segundo día del estro ($r = 0.33$), la cual se incrementó después del día cuatro postestro ($r = 0.80$). Asimismo, Saumande²², obtuvo altos coeficientes de correlación ($r = 0.90$) entre el número de CL y las concentraciones de P4 desde el segundo día después del estro. A pesar de la alta relación observada entre esas dos variables, ésta no puede ser utilizada para predecir el número de CL con precisión a partir de las concentraciones de P4, debido a la gran variabilidad individual observada en cuanto al número de ovulaciones²², y a las distintas respuestas a diferentes tratamientos superovulatorios como se determinó en el presente estudio.

Con respecto al número de embriones colectados, Saumande y col.²⁵, obtuvieron una correlación de $r = 0.55$ ($P < 0.001$) entre esta variable y las concentraciones de progesterona en el día cinco después del estro. Del mismo modo, Kweon y col.¹⁸ observaron una alta relación entre esas variables ($r = 0.80$; $P < 0.001$); sin embargo, no detectaron ninguna correlación significativa refe-

rente al número de embriones transferibles con la concentración de P4 en ningún período posterior al quinto día puestro.

Se detectó una asociación positiva entre las concentraciones de progesterona sérica presentes el día de la colección embrionaria con la respuesta superovulatoria; no obstante, dicha asociación fue baja por lo que su uso para predecir la respuesta superovulatoria a tratamientos hormonales aplicados a cabras, no se recomienda. Por último, al igual que en hembras bovinas, la respuesta ovárica a la superovulación es mayor en las cabras que reciben FSH, que en las tratadas con PMSG, sola o combinada con ACM.

AGRADECIMIENTOS:

Se agradece a Laboratorios Intervet de México la donación de la PMSG (Foligón), los ACM (Neutra-PMSG) y las esponjas con acetato de fluorogestona.

SUMMARY

The aims of this experiment were to evaluate the changes of serum progesterone in goats superovulated with FSH, PMSG or PMSG + monoclonal antiserum against PMSG (Anti-PMSG) and to evaluate the association between progesterone concentrations and ovulation rate or number of embryos collected. Twenty six Alpine goats were treated with intravaginal sponges containing 45 mg of fluorogestone acetate to induce estrus. Forty eight hours before sponge removal, goats were distributed to the following superovulatory treatments: group I (n=8), 1100 UI PMSG; group II (n=9), 1100 UI PMSG plus anti-PMSG; group III (n=9), a total dose of 14 mg FSH. Embryos were collected surgically do five days after estrus. Blood samples were taken before intravaginal sponge insertion and superovulatory treatment (Period of implant); at 0,12 and 24 h after the onset of standing estrus (Period of estrus), before embryo collection and days 9 and 13 (luteal phase); and then every four days until next estrus (post-luteal phase). Goats treated with FSH had the highest ($P < 0.05$) ovulation rate (14 vs 4.1 and 5.4) and number of embryos (9.7 vs 3 and 2.3) than those injected with PMSG or PMSG plus anti-PMSG. Concentrations of serum progesterone during the luteal phase were higher ($P < 0.05$) in PMSG treated goats (5.7 ng/ml) than in FSH or PMSG treated animals (2.9 and 3.3 ng/ml, respectively). There were positive correlations ($P < 0.05$) between progesterone concentrations and number of corpor alutea ($r = 0.46$), embryos collected ($r = 0.50$) and transferable embryos ($r = 0.48$). The first conclusion is

that in goats FSH induce more ovulations and embryos than PMSG alone or combined with anti-PMSG. Because P4 was higher in serum from PMSG treated goats than in those receiving FSH or PMSG, but less ovulations and embryos than animals injected with FSH, the second conclusions is that prediction of response to superovulatory treatments from concentrations of serum P4 is not accurate in goats.

LITERATURA CITADA

- 1.-ANDERSON, L.V. and McLEAN, P. 1974. Design of experiments. Marcel Dekker, Inc. New York. USA.
- 2.- ARMSTRONG, D.T. and EVANS, G. 1983. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology*, 19:31.
- 3.- ARMSTRONG, D.T. PFITZNER, A.P. WARNES, G.M. RALPH, M.M. and SEAMARK, R.F.1983. Endocrine responses of goats after induction of superovulation with PMSG and FSH. *J. Reprod. fert.*, 67:395.
- 4.- ARMSTRONG, D.T. PFITZNER, A.P. WARNES, G.M. and SEAMARK, R.F.1983. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. *J. Reprod. Fert.*, 67:403.
- 5.- BATTYE, K.M. FAIRCLOUGH, R.J. CAMERON A.W.N. and TROUSON A.O. 1988. Evidence for prostaglandin involvement in early luteal regression of the superovulated nanny goat (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fert.*, 84: 425.
- 6.- CALLESEN, H. BAK, A. GREVE T. AVEY B GOT-FREDSSEN P. HOLM P. HYTTEL, P. PEDERSEN, J.O. SCHMIDT, M. SMITH, S. and SVANBORG, N.1989. Use of PMSG antisera in superovulated dairy heifers. *Theriogenology* 31:179 (Abstrc.).
- 7.- CALLESEN, H. GREVE, T. and HYTTEL, P. 1986. Preovulatory endocrinology and oocyte maturation in superovulated cattle. *Theriogenology*, 25: 71.
- 8.- CALLESEN, H. GREVE T. HYTTEL P., BAK A. GOTFREDSSEN P. and HOLM P. 1990. Preovulatory plasma estradiol-17B concentrations and ovulation rates in PMSG/anti PMSG treated heifers. *Theriogenology*, 34: 251.
- 9.- CHUPIN, D. COMBARNUS Y. and PROCUREUR R.1985. Different effect of HL on FSH-induced superovulation in two breeds of cattle. *Theriogenology*. 23:184.
- 10.- CORDOVA S.L.A. 1992. Colección quirúrgica de embriones utilizando sondas de Foley en cabras superovuladas. *Mem. VII Reunión Nacional sobre Caprinocultura*, Monterrey, N.L., México. 73.
- 11.- ELSDEN, R.P. NELSON L.D. and SEIDEL, G.E.

- 1978, superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotrophin. *Theriogenology*, 9:17-27.
- 12.- GILBERT, D.E. COONROD S.A. WHITING C.J. PASHEN R.L. 1990. Comparison of a progesterone intravaginal device (CIDR= with flunixin meglumine (Finadyne= for reducing the effects of corpora lutea regression in the goat. *Theriogenology*, 33:230.
- 13.- GREVE, T. BAK, A. and SCHMIDT, M. 1988. Superovulation of dairy cattle: effect of PMSG-antiserum treatment. *Theriogenology* 29:252.
- 14.- HOLM, P. PETERSEN B.A. KROGH K. DAGNAES-HANSEN, F. and LAURSEN I.A. 1990. Embryo transfer in Danish Angora goats. *Theriogenology*, 33:250.
- 15.- HORTON, E.W. and POYSER, N.L. 1976. Uterine luteolytic hormone: A physiological role for prostaglandin F₂. *Physiol. Rev.* 56:595.
- 16.- JENSEN, M.A. GREVE, T., MADEY A. and EDQVIST, L.E. 1982. Endocrine profiles and embryo quality in the PMSG-PGF₂ treated cows. *Theriogenology*, 18: 33.
- 17.- JIMENEX, F. GALINA C.S. RAMIREZ, B. and NAVARRO, F.R. 1985. Comparative study of the concentrations of peripheral progesterone and PGF₂ alpha injection between *Bos taurus* and *Bos indicus* in the tropics. *Anim. Reprod. Sci.*, 9:333.
- 18.- KWEON, O.K. KANAGAWA, H. TAKAHASHI Y. MIYAMOTO, A. MASAKI, J. UMEZU, M. KAGABU, S. IWAZUMI, Y. and AOYAGI, Y. 1987. Plasma endocrien profiles and total cholesterol levels in superovulated cows. *Theriogenology*, 27:841.
- 19.- LUCY, M.C. MACMILLAN, K.L. THATCHER, W.W. DROST, M. and TAN, H.S. 1990 Effect timing of prostaglandin PGF₂ injection subsequent to embryo collection on the resumption of normal follicular development following superovulatory treatment in cattle. *Theriogenology* 34:7.
- 20.- MURPHY, D.B. MAPLOTOFT, R.J. MANNS, J. and HUMPHREY, W.D. 1984. Variability in gonadotrophin preparation as a factor in the superovulatory response. *Theriogenology*, 21:117.
- 21.- ROBERTSON, H.A. 1977. Reproduction in the ewe and the goat. In reproduction in Domestic Animals, Edited by Cole H.H. and Cups P.T. Academic Press, New York, p. 483.
- 22.- Saumande, J. 1980. Concentrations of luteinizing hormone, oestradiol 17 beta and progesterone in the plasma of heifers treated to induce superovulation. *J. Endocr.* 84: 425.
- 23.- SAUMANDE, J. and BATARA, S.K. 1985. Superovulation in the cow: comparison of oestradiol-17B and progesterone patterns in milk and plasma of cows induce to superovulate; relationships with ovarian responses. *J. Endocrinol.* 107: 259.
- 24.- SAUMANDE, J., PROCUREUR, R. and CHUPIN, D. 1984. Effect of injection time of anti-PMSG antiserum on ovulation rate and quality of embryos in superovulated cows. *Theriogenology*, 22: 727.
- 25.- SAUMANDE, J. TAMBOUSA D. and CHUPIN. D. 1985. Changes in milk and plasma concentrations of progesterone in cows after treatment to induce superovulation and their relationship with number of ovulations and of embryos collected. *Theriogenology*.23:719.
- 26.- SAVIO, J.D. KEENAN, L. BOLAND M.P. and ROCHE J.F. 1988. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle of heifers. *J. Reprod. Fert.*, 83: 663.
- 27.- SCHMIDT, M. GREEVE, T. and CALLESEN, M. 1988. Superovulation of cattle with FSH containing standardized LH amounts. *11th. Int. Congr. Anim. Reprod. A.I.* Edimburg, Scotland. 2:191.
- 28.- SOLTI, L. GREVE, T. and KOEFED-JOHNSEN, H. 1978. Plasma progesterone assays in superovulated cattle. *Acta vet Scand.* 19: 298.
- 29.- TAMAYO, J.L. 1969. Geografía General de México, 2da. Edición Instituto de Investigaciones Económicas, México, D.F.
- 30.- TAMBOURA D. CHUPIN, D. and SAUMANDE, J. 1985. Superovulation in cows: a relationship between progesterone secretion before ovulation and the quality of embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 8: 327.
- 31.- TANEJA, M., PAWSHE, C.H. GURON, C.S. SHINGH G., TOTEY, S.M. and TALWAR, C.P. 1991. Superovulation of Barbari goats with follitropin. The effect of dose. *Theriogenology*. 35: 280 (Abstract).
- 32.- WU, M. WANG, H. MURPHY, B.D. and MAPLETOFT, J.R. 1988. Superovulation of beef cows with follitropin: a dose trial. *Theriogenology*, 29:332 (Abstract).