



Universidad Nacional Autónoma de México

**Tesis presentada ante la División de Estudios
Profesionales de la Facultad de Medicina
Veterinaria y Zootecnia**

**ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LA
DETERMINACION DE NIVELES DE
PROGESTERONA Y LA PALPACION DE CUERPO
LUTEO A LOS 24 DIAS DESPUES DE LA
INSEMINACION ARTIFICIAL COMO METODOS
DE DIAGNOSTICO DE GESTACION**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
BIBLIOTECA**

**T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
Médico Veterinario Zootecnista
P R E S E N T A**

Fernando Arturo Villa Ruíz

ASESORES

M.V.Z. CARLOS S. GALINA HIDALGO

M.V.Z. LUIS ZARCO QUINTERO

México, D. F.

1985

i





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis padres
Virginia Ruíz de Villa
Silvestre Villa Molina
Quienes con sus duras experiencias,
ejemplos y estímulos me han ayudado
a realizar una de mis metas.

A mis hermanos:
Yolanda
Silvestre
Mario
Jorge
Agustín
Sergio
por su apoyo que me han
brindado para seguir
adelante. ,

A ti Romy
Que compartimos juntos momentos
buenos y malos, que sembraste
en mi tenacidad y espíritu de
lucha, por ser mi apoyo, -
compañera, amiga y esposa... por
tu amor.

A Liliana y Fernando Arturo,
con cariño.

A mis sobrinos.

Deseo hacer patente mi agradecimiento por su valiosa colaboración en el desarrollo de este trabajo:

Al MVZ Carlos Galina Hidalgo

Al MVZ Luis Zarco Quintero

A la QFB Bertha Ramírez A.

Al MVZ Carlos Malagón Vera

A mis maestros por
contribuir a mi
formación profesional

A todas las personas que con
sus sugerencias y opiniones
ayudaron a la realización de
esta tesis.

Al Honorable Jurado:
MVZ Jorge Zenteno Servín
MVZ Norberto Vega Alarcón
MVZ Fernando Pérez-Gil Romo
MVZ Rafael Meléndez Guzmán
MVZ Rosa Ma. Páramo Ramírez

CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. RESUMEN.	1
II. INTRODUCCION.	3
III. OBJETIVO.	9
IV. MATERIAL Y METODOS.	11
V. RESULTADOS.	14
VI. DISCUSION.	20
VII. LITERATURA CITADA.	24

I. RESUMEN

VILLA RUIZ, FERNANDO ARTURO. Estudio comparativo entre la determinación de niveles de progesterona y la palpación de cuerpo lúteo a los 24 días después de la inseminación artificial, como métodos de diagnóstico de gestación. (Bajo la dirección de: Carlos S. Galina Hidalgo y Luis Zarco Quintero).

Con el propósito de comparar la efectividad entre la palpación rectal y la medición de los niveles de progesterona (P_4) como técnicas para el diagnóstico de gestación a los 21-24 días después de la Inseminación Artificial (IA), se procedió a tomar muestras sanguíneas para la posterior determinación de niveles de progesterona así como a la palpación de los ovarios en 26 vacas Holstein. En el examen rectal se delimitaron las estructuras presentes en cada uno de los ovarios y después se tomaron muestras de sangre para determinar los niveles de P_4 , una vez obtenidos los resultados, se procedió a clasificarlos de acuerdo a los niveles de P_4 y a los hallazgos encontrados durante la palpación ovárica. Se utilizó una 3a. técnica en donde se combinaron las dos mencionadas. La efectividad para detectar hembras gestantes fue mayor utilizando la medición de progesterona (81.3%) mientras que en los dos métodos restantes se obtuvo 45.5% de aciertos. La efectividad para detectar hembras no gestantes fue superior cuando se utilizó la combinación de los dos métodos, obteniéndose 66.7% de aciertos mientras que por la palpación rectal y la medición de P_4 se obtuvieron 53.3% y 46.7% respectivamente. Se concluye que el método de determinación de niveles de P_4 , en los 21-24 días después de la I.A. fue el más efectivo para detectar hembras gestantes, ya que el 81% de las vacas fueron diagnosticadas como tales.

II. INTRODUCCION

El diagnóstico de gestación es el reconocimiento de los cambios anatómicos y funcionales que por la preñez tienen lugar en el aparato genital y en todo el organismo de la hembra.

En el ganado bovino este diagnóstico es muy valioso, pues si la fecha de servicio es desconocida por el ganadero, el veterinario puede precisar el período de gestación e indicar cuando tendrá lugar el parto. El diagnóstico de gestación también es necesario para decidir que vacas deben ser desechadas por infertilidad, así como para evitar el envío al rastro de hembras gestantes.

Si la fecha de servicio se conoce, como en el caso del ganado lechero, donde por lo regular se mantienen registros, el diagnóstico de gestación debe ser rutinario para saber si hay trastornos en la gestación (4,5).

El diagnóstico de gestación precoz es económicamente importante tanto en el ganado productor de carne como en el lechero. La determinación de la preñez a los 30-35 días después del empadre o de la inseminación artificial (I.A.) nos indicará cuales hembras parirán en época propicia, cuales serán costeables de tratar y cuales serán vendidas para el abasto; además nos permitirá detectar hembras que no están gestantes pero que no muestran calor, así como determinar la edad de la gestación, para fijar fecha de secado y fecha probable de parto.

El método clínico clásico para el diagnóstico de gestación en los bovinos está basado en la palpación de los

órganos reproductivos a través de la pared del recto (5, 22). El diagnóstico de gestación por palpación rectal se basa en la presencia de uno o más de los siguientes signos: presencia de vesícula amniótica, deslizamiento de membranas fetales, presencia de cotiledones, o presencia del feto. Debido a que se requiere que el embrión haya alcanzado cierto grado de desarrollo, la palpación rectal tiene la desventaja de que su utilización solo es factible a partir de los 40 días o más de haberse efectuado la fertilización, además de que es impracticable por personal subprofesional o no capacitado específicamente para ello.

Otra limitante del diagnóstico temprano de gestación por palpación rectal es el posible daño al embrión durante la palpación, lo que puede causar muerte y reabsorción del embrión. El examen rectal también se ve limitado por factores tales como el grado de resistencia voluntaria o involuntaria del animal y la falta de instalaciones apropiadas (1).

Debido a estas limitantes se han realizado intentos para encontrar una técnica alternativa, que sea suficientemente eficaz y precisa para poder realizar el diagnóstico temprano de gestación sin las limitaciones del examen rectal. Los intentos para desarrollar una técnica apropiada se han basado en estudios recientes sobre cambios que ocurren en el moco cervical y vaginal, en la sangre, orina y leche, durante cada una de las fases del ciclo estral y durante la gestación (11,17).

Una técnica práctica y confiable de diagnóstico temprano

de gestación tendría las siguientes aplicaciones:

- Permitiría una evaluación temprana del potencial fertilizante efectivo del semen.
- Nos permitiría conocer el tiempo exacto en que se encuentra alterado el proceso reproductivo y por lo tanto nos ayudaría a proporcionar el tratamiento adecuado para corregir dichas alteraciones (4,5,15).
- En explotaciones de ganado lechero permitiría conocer con rapidez y exactitud si la inseminación efectuada en un animal ha tenido el éxito previsto para que de lo contrario se reduzca lo más posible el tiempo perdido y proporcionarle un servicio mas, ó bien la terapéutica adecuada para corregir las disfunciones reproductivas.

La medición de la concentración de progesterona en sangre o leche por medio de radioinmunoanálisis (RIA), es una de las técnicas que se han utilizado para diferenciar entre animales gestantes y aquellos que no lo están (10,17). Además esta técnica ha sido utilizada para detectar a las hembras que están ciclando y sin embargo no son observadas en estro oportunamente, así como para estudiar la actividad ovárica de un hato, con el fin de programar los ciclos reproductivos de las hembras con anticipación (4,5).

El diagnóstico de gestación, por medio de la determinación de la concentración de progesterona a los 21-24 días después del servicio, está basado en el conocimiento de los niveles normales de progesterona en las diversas etapas del ciclo estral (2,6,7,16,18,20).

Durante la fase lútea, los niveles de progesterona se elevan entre los 4 y 10 ng/ml y en casos excepcionales encima de 12 ng/ml de plasma. Los niveles más elevados son usualmente alcanzados entre los 8 y 10 días después del estro. En el animal vacío, al acercarse el siguiente estro los niveles de progesterona bajan rápidamente a partir del día 17-18 del ciclo para alcanzar niveles basales (menos de 1 ng/ml) en 2 ó 3 días, en cambio en el animal gestante, los niveles de progesterona se mantienen elevados durante el resto de la gestación, por lo que la concentración de progesterona en el día 21-24 postservicio será baja en animales vacíos y alta en animales gestantes.

Existe una alta correlación entre los niveles de progesterona en leche y los niveles en sangre, lo cual nos indica que la medición de esta hormona en cualquiera de los dos fluidos es una técnica aceptable (8,10).

Existen variables en cuanto al grado de efectividad al medir progesterona para detectar gestación, en general se tiene un 95-100% de eficiencia en detectar las hembras que no están gestantes, y alrededor de un 80% de eficiencia en la detección de hembras gestantes (3).

A pesar de la precocidad y efectividad de ésta técnica, existen varias desventajas para el uso rutinario de la determinación de niveles de progesterona, estas incluyen las dificultades asociadas con la obtención, identificación y conservación de las muestras, transporte hasta el laboratorio y alto costo de los análisis hormonales. Otra limitante

es que los niveles de progesterona pueden encontrarse elevados en los días 21-24 después del servicio por razones ajenas a la gestación, como son: persistencia del cuerpo lúteo debido a piometra, y la presencia de ciclos estrales irregulares, es decir mas cortos ó mas largos de lo normal.

La palpación rectal ha sido utilizada para seguir la actividad ovárica (5,21), a través de la identificación de un cuerpo lúteo (CL) por vía rectal. Dado que los niveles de progesterona durante el ciclo estral y durante la gestación temprana son el reflejo de la presencia o ausencia de un CL funcional en los ovarios (21), es posible que la palpación del ovario por vía rectal en el día 21-24 postservicio, para determinar la presencia o ausencia de un cuerpo lúteo, sea un método tan efectivo para el diagnóstico de gestación como la determinación de los niveles de progesterona, siendo al mismo tiempo un método más barato y sencillo de implantar que este último. Se considera que con experiencia se es capaz de reconocer un CL en el 80% de los casos (22), situación similar a lo obtenido por medio de la medición de progesterona. En apoyo a este punto, Vaca (21), encontró una buena correlación entre los niveles de progesterona y la presencia de cuerpo lúteo palpable en ganado Indobrasil.

Tanto con el método de determinación de progesterona, como con el método de palpación de cuerpo lúteo, siempre habrá un cierto grado de falsos positivos y falsos negativos; es posible que el uso combinado de las dos técnicas reduzca el margen de error, incrementando la efectividad del diagnóstico.

III. OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo es comparar la efectividad de tres métodos de diagnóstico temprano de gestación: (1o) la determinación de los niveles de progesterona a los 21-24 días postservicio, (2o) la palpación de los ovarios para determinar la presencia de un cuerpo lúteo en el mismo período, (3o) combinación de los dos métodos anteriores.

IV. MATERIAL Y METODOS

Los animales empleados en este trabajo fueron 26 vacas - de la raza Holstein Friesian, las cuales fueron inseminadas artificialmente.

Todas las vacas fueron palpadas para detectar la presencia de cuerpo lúteo entre los 21 y los 24 días posteriores a la inseminación artificial. La palpación rectal se realizó - por una misma persona en todos los animales, teniendo la - precaución de hacerla de la manera mas gentil posible, con un guante de plástico lubricado, procurando evitar la palpación del útero y solo delimitar las estructuras presentes en el - ovario.

Inmediatamente después de la palpación se obtuvo una - muestra de sangre de la vena caudal. Tanto la palpación como la toma de la muestra de sangre se realizaron entre las 11 y las 13 horas.

Las muestras se enfriaron inmediatamente en una caja de poliuretano con hielo y fueron transportadas al laboratorio, dejándolas en reposo durante 2 horas para permitir la mejor formación del coágulo, el cual se retiró transcurrido dicho tiempo. Posteriormente se procedió a centrifugar las - muestras a 2500 rpm durante 15 minutos.

El suero fue separado y congelado hasta su posterior - utilización, para medir progesterona por medio de radioinmunoanálisis (RIA), en el Laboratorio de Hormonas Esteroides del Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto - Nacional de la Nutrición, de acuerdo al método descrito por

Jiménez F. (13).

Los criterios que se utilizaron para considerar a una vaca como gestante fueron:

- 1).- Con el método de palpación rectal la vaca debió presentar un cuerpo lúteo maduro en alguno de los ovarios a los 21-24 días postservicio.
- 2).- Por el método de la medición de progesterona, las vacas con valores superiores de 2.5 ng/ml de progesterona entre los días 21-24 fueron consideradas gestantes, no así aquellas que tenían niveles inferiores de 2.5 ng/ml de progesterona.
- 3).- En el método combinado, las vacas que presentaron un CL maduro y niveles significativos de progesterona (más de 2.5 ng/ml), se consideraron gestantes, en cambio vacas que presentaron un CL maduro y niveles inferiores de 2.5 ng/ml de progesterona se consideraron vacías.
- 4).- El diagnóstico definitivo de gestación se realizó por medio de la palpación rectal a los 45 días después del servicio, los resultados de los tres métodos se compararon por medio de la prueba de Chi cuadrada.

V. RESULTADOS

La relación de los hallazgos a la palpación rectal, -
niveles de progesterona y diagnóstico definitivo de gestación
en cada vaca, se presenta en el cuadro 1.

La efectividad para detectar hembras gestantes fue mayor
utilizando el método de progesterona (cuadro 2), que utili-
zando la palpación rectal o la combinación de los dos métodos,
sin embargo la diferencia no es estadísticamente significa-
tiva.

Por otra parte, la efectividad para detectar hembras no -
gestantes fue ligeramente superior cuando se utilizó una -
combinación de los dos métodos, que cuando se utilizó la -
palpación o la medición de progesterona por si solas (cuadro
3), las diferencias no son significativas estadísticamente.

En el cuadro 4 se presenta un resumen de los resultados
obtenidos al emplear la palpación rectal, niveles de proges-
terona y el método combinado en este cuadro se observa que,
cuando se combinan los resultados del diagnóstico de hembras -
gestantes y no gestantes para determinar la efectividad -
total de cada método, se observa que se obtuvo un número -
ligeramente mayor de aciertos utilizando el método de proges-
terona, que utilizando los otros dos métodos, las diferencias
no son significativas estadísticamente.

CUADRO 1. Relación de los hallazgos a la palpación rectal, niveles de progesterona y diagnóstico definitivo de gestación en cada vaca.

Caso No.	Presencia de CL	Niveles de progesterona ng/ml	Gestación Si (+) No (-)
1	No	0.32	-
2	Si	4.56	-
3	Si	2.89	+
4	No	2.37	-
5	No	7.75	+
6	No	2.57	-
7	Si	5.66	-
8	No	2.34	+
9	No	4.08	-
10	No	2.42	-
11	No	2.04	+
12	No	0.80	-
13	Si	2.36	-
14	Si	5.90	-
15	Si	2.97	-
16	Si	3.47	+
17	No	4.35	-
18	No	0.17	-
19	Si	4.46	-
20	Si	4.42	+
21	Si	3.78	+
22	Si	0.47	-
23	No	4.44	+
24	Si	3.36	+
25	No	3.38	+
26	No	5.65	+

CUADRO 2

Comparación de la efectividad para detectar hembras gestantes, empleando la palpación rectal, los niveles de progesterona y el método combinado.

	CL	P4	Combinado
Número de hembras gestantes	11	11	11
Detectadas	5(45.5%)	9(81.8%)	5(45.5%)
No Detectadas	6(54.5%)	2(18.2%)	6(54.5%)

Las diferencias no son estadísticamente significativas -
 $P > 0.05$

CUADRO 3

Comparación de la efectividad para detectar hembras no gestantes, utilizando el método de la palpación rectal, medición de progesterona así como el método combinado.

	CL	P4	Combinado
Número de hembras no gestantes	15	15	15
Detectadas	8(53.3%)	7(46.7%)	10(66.7%)
No Detectadas	7(46.7%)	8(53.3%)	5(33.3%)

Las diferencias no son estadísticamente significativas
 $P > 0.05$

CUADRO 4

Resumen de acertadas gestantes, acertadas no gestantes, falsos positivos y falsos negativos, así como total de aciertos y - total de errores, empleando el método de la palpación rectal, el de medición de progesterona y el método combinado.

	CL	P4	Combinado
Número de animales	26	26	26
Acertadas gestantes	5(19.2%)	9(34.6%)	5(19.2%)
Acertadas no gestantes	8(30.7%)	7(26.9%)	10(38.5%)
Total de aciertos	13(50%)	16(61%)	15(58%)
Falsos positivos	7(26.9%)	8(30.7%)	5(19.2%)
Falsos negativos	6(23.1%)	2(7.7%)	6(23.1%)
Total de errores	13(50%)	10(39%)	11(42%)

VI. DISCUSSION

El método de determinación de niveles de progesterona en los días 21-24 postservicio fue el más efectivo para detectar hembras gestantes, ya que el 81% de las vacas gestantes fueron diagnosticadas como tales. Sin embargo tanto el método de progesterona como el método de palpación del CL y el método combinado registraron un alto índice de falsos positivos, lo que resta valor práctico a dichos métodos pues muchas vacas son consideradas gestantes sin estarlo realmente.

La mortalidad embrionaria entre el día del diagnóstico por progesterona o palpación del CL (día 21-24) y el día del diagnóstico definitivo de gestación (día 40-45), es una de las principales causas de falsos positivos, otras causas son los ciclos irregulares y la inseminación durante la fase lútea del ciclo (9, 14, 23). Zaied y colaboradores, 1979 redujeron la incidencia de falsos positivos mediante la repetición de la determinación de progesterona entre el día 27 y 28 postservicio, ellos consideraron como gestantes solamente a los animales que presentaron niveles elevados de progesterona tanto en los días 21 ó 22 como en los días 27 ó 28.

El método de determinación de progesterona fue el que menos índice de falsos negativos tuvo, ya que solo 2 de las vacas que fueron diagnosticadas como vacías no lo estaban. En cambio hubo 6 casos de falsos negativos utilizando el método de palpación del cuerpo lúteo y también 6 casos utilizando el método combinado. El mayor número de falsos negativos que se obtuvo cuando se utiliza la palpación del CL para

hacer el diagnóstico, puede estar relacionado con la presencia de un cuerpo lúteo que es funcional (produce progesterona), pero está enterrado en el estroma ovárico ó es de tamaño pequeño (23).

La efectividad para detectar hembras no gestantes fue baja para los 3 métodos, ya que tan solo alrededor del 50% de los animales vacíos fueron detectados como tales con cualquiera de los 3 métodos. Esto es un reflejo del alto índice de falsos positivos.

Es posible que la utilización de suero como material biológico haya sido en parte responsable de la baja efectividad obtenida en este trabajo ya que otros autores han obtenido resultados mucho mejores determinando los niveles de progesterona en leche. Por ejemplo, Zaied et al (1979) obtuvieron 95% y 100% de precisión en el diagnóstico de gestación y no gestación respectivamente, y resultados similares han sido descritos por Heap et al (1976); Sainz Cidoncha y Pérez García, (1982) e Inaudi et al (1982). Es posible que la mayor efectividad encontrada por los autores que han trabajado con leche, se deba a que los niveles de progesterona en leche presentan niveles acumulados de la secreción de progesterona a lo largo del día, durante el cual hay episodios de secreción activa de progesterona y episodios de menor secreción. En cambio, los niveles de progesterona en suero fluctúan ampliamente de un momento a otro debido al carácter episódico de la secreción de progesterona, de esta forma se obtendrán diferentes

resultados, de acuerdo a la relación que haya entre el momento de la toma de la muestra y el último episodio de secreción de progesterona.

La utilización de leche como material biológico ofrece además la ventaja, en vacas lecheras, de facilitar la obtención de la muestra sin necesidad de un manejo adicional de los animales (23).

Los resultados de este trabajo indican que el método de determinación de progesterona en suero no es significativamente más efectivo que el método de palpación del cuerpo lúteo. Ambos métodos tuvieron un margen de error (falsos positivos y negativos) demasiado elevado como para ser considerados como alternativas útiles en el diagnóstico de gestación; la utilización del método combinado no mejoró la efectividad.

VII. LITERATURA CITADA

1. ARTHUR, G.H.: Wright's Veterinary Obstetrics, 3rd. ed., - Bailliere Tynhall and Cassell, London, 57 (1964).
2. AYALON, N. and SHEMESH, M.: Pro-oestrus surge in plasma - progesterone in the cow. J. Reprod. Fert. 36:239-243 - (1974).
3. BOOTH, J.M.: Milk progesterone pregnancy testing in cattle and other species. 9th. International Congress on Animal Reproduction and A.I. Vol. II (1980).
4. BOYD, H. and MUNRO, C.D.: Progesterone assays and rectal palpation in preservice management of dairy herd. Vet. - Rec. 104:341 (1979).
5. DAWSON, F.L.M. Veterinary Investigation Centre, Madingley Road, Cambridge.: Accuracy of rectal palpation in the - diagnosis of ovarian function in the cow. Vet. Rec. 96: 218-220 (1975).
6. DONALDSON, L.E., BASSET, J.M., THORBURN, G.D.: Peripheral plasma progesterone concentration of cow during puberty, oestrus cycles, pregnancy and lactation, and the effects of undernutrition or exogenous oxytocin on progesterone concentration. J. of Endocrinology 48:599 (1970).
7. GLENCROSS, R.G., MUNRO, R.B., SENIOR, B.E., POPE, G.S.: Concentrations of oestradiol-17, oestrone and progesterone in jugular venous plasma of cow during the oestrus cycle and early pregnancy. Acta Endocrinológica 73:374 (1973).

8. GOWAN, E.W., ETCHES, R.J.: A solid-phase radioimmunoassay for progesterone and its application to pregnancy diagnosis in cow. Theriogenology 12:327 (1979).
9. HEAP, R.B., HOLDSWORTH, R.J., GADSBY, J.E., LAING, J.A., WALTERS, D.E.: Pregnancy diagnosis in the cow from milk progesterone concentration. Brit. Vet. J. 132 (5)445-464 (1976).
10. HILARY, DOBSON., SANDIE, E., MIDNER and FITZPATRICK, R.J.: Departament of Veterinary Clinical Studies, University of Liverpool. Vet. Rec. 96:222-223 (1975).
11. HOLY, L.D.: Sistema y regulación de la actividad sexual de la hembra bovino según los conocimientos modernos. - C. Sup. de Agricultura Tropical H. Cárdenas Tab. (1976).
12. INAUDI, P., BACIGALUPO, M., MONITTOLA, C., LUGARO, G., - GENAZZANI, A.R.: Pregnancy diagnosis in cattle by a - rapid and highly reliable method for progesterone - determination in milk. J. Reprod. Fert. 65:265-273 (1982).
13. JIMENEZ, F., GALINA, C.S., RAMIREZ, B. and NAVARRO-FIERRO, R.: Comparative study of the concentrations of peripheral progesterone before and after PGF₂ injection between - Bos taurus (Brown Swiss) and Bos indicus (Indobrazil) in the tropic. Anim. Rep. Sci. en prensa (1984).
14. LAING, J.A.: Pregnancy diagnosis and progesterone levels in cow's milk. Vet. Rec. 99:188 (1976).
15. MELROSE, D.R.: The need for, and possible methods of application of hormones assay techniques for improving reproductive efficiency. Brit. Vet. J. 135:453 (1979).

16. PLOTKA, E.D., ERB, R.E., CALLANHAN, C.J., GOMEZ, W.R.:
Levels of progesterone in peripheral blood plasma during
the estrus cycle of the bovine J. Dairy Sci. 50:1158-
(1967).
17. POPE, G.S., MAZLIK, I., BALL, C.J.H. and LEAVER.: Use of
progesterone concentrations in plasma and milk in the
diagnosis of pregnancy in cattle. Brit. Vet. J. 132:497
(1976).
18. ROBERTSON, H.A.: Sequential changes in plasma progesterone
in the cows during the estrus cycle, pregnancy and -
lactation. Canadian J. Anim. Sci. 52:645-668 (1972).
19. SAINZ CIDONCHA AND PEREZ GARCIA.: Pregnancy diagnosis
from milk: latest results form Spain. Brit. Vet. J. -
138:538-542 (1982).
20. STABENFELDT, G.H., EWING, L.L. and McDONALD, L.E.:
Peripheral plasma progesterone levels during the bovine
oestrus cycle. J. Reprod. Fert. 19:433-441 (1969).
21. VACA, L.A.: Progesterone levels and relationship with
the diagnosis of a corpus luteum by rectal palpation
during the estrous cycle in zebu cows. Tesis de maestría
Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma
de México. México D.F., 1983.
22. WATSON, E.D. and MUNRO, C.D.: Asessement of the -
technique of rectal palpation of corpora lutea in cows.
Vet. Rec. J. 136:555 (1980).

23. ZAIED, A.A., BIERSchWAL, C.J., ELMORE, R.G., YOUNGQUIST, R.S., SHARP, A.J., GARVERICK, H.A.: Concentrations of progesterone in milk as a monitor of early pregnancy diagnosis in dairy cows. Theriogenology 12:3-11 (1979).