



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

01669 2e3
1988
1703
2418

**EFFECTO DE LA APLICACION DE CIPIONATO DE ESTRADIOL EN LOS DIAS 12 Y 13
DEL CICLO ESTRAL Y GESTACION SOBRE LOS NIVELES PLASMATICOS DE
PROGESTERONA Y NUMERO DE EMBRIONES EN CERDAS PRIMERIZAS**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL**

PRESENTA

EFREN ESTRADA PAQUI

ASESORES

M.V.Z Msc. JOAQUIN BECERRIL A.

M.V.Z. PHD. LUIS ZARCO O.

ABRIL 1988

**TEJIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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 está 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.

INDICE

Página

RESUMEN

I.	INTRODUCCION	1
II.	REVISION DE LA LITERATURA	5
1.	Aspectos reproductivos de la cerda primeriza....	5
1.1.	Regulación endócrina del ciclo estral.....	5
1.2.	Establecimiento de la gestación.....	14
1.3.	Mortalidad embrionaria durante la gestación....	24
2.	Incremento del tamaño de la camada en la.....	29
	cerda primeriza	
2.1.	Tratamiento hormonal.....	29
III.	MATERIAL Y METODOS	
1.	Animales experimentales.....	33
2.	Grupos experimentales.....	34
3.	Procedimiento experimental.....	35
3.1.	Inicio y sincronización del estro.....	35
3.2.	Colección y dilución de semen.....	35
3.3.	Momento y técnica de inseminación.....	36
3.4.	Toma de muestras sanguíneas.....	37
3.5.	Radioinmunoanálisis.....	37
3.6.	Variables evaluadas.....	38
3.7.	Análisis estadístico.....	39

IV. RESULTADOS.....	40
IV.A. Hembras ciclando	40
IV.B. Hembras gestantes	44
V. DISCUSION.....	50
V.1. Efectos endócrinos	50
V.2. Efectos sobre la fertilidad	54
VI. LITERATURA CITADA.....	61

RESUMEN

ESTRADA PAQUI EFREN. Efecto de la aplicación de cipionato de estradiol en los días 12 y 13 del ciclo estral y gestación sobre los niveles plasmáticos de progesterona y número de embriones en cerdas primerizas (bajo la dirección de: Joaquín Becerra Angeles y Luis Zarco Quintero).

Se utilizaron 80 cerdas primerizas con edad promedio de 160 días y un peso de 87 kg. tres verracos híbridos entrenados para la colección de semen. Se asignaron al azar 20 cerdas a cada grupo experimental: Grupo 1 formado por cerdas en su segundo ciclo estral ; grupo 2 integrado por cerdas en su segundo ciclo estral que recibieron la aplicación de cipionato de estradiol (CE) 1 mg por cerda por día, vía intramuscular en los días 12 y 13 del ciclo estral (primer día de estro=día 0); Grupo 3 cerdas servidas con doble inseminación durante el segundo estro, con semen diluido en un volumen de 100 ml a una concentración de 5×10^9 espermatozoides; Grupo 4 cerdas que fueron inseminadas igualmente que las del grupo 3 recibiendo además la aplicación de CE 1 mg por cerda por día vía intramuscular en los días 12 y 13 de gestación. A todas las cerdas se les colectaron muestras de sangre de la vena yugular cada 48 horas. En las cerdas ciclando (grupos 1 y 2) del día 4 hasta que presentaron el estro subsecuente y en las cerdas preñadas (grupos 3 y 4) del día 4 al 26 de gestación. Los

niveles plasmáticos de progesterona se determinaron por radioinmunoanálisis en fase líquida. Los niveles de progesterona en las cerdas ciclando de los grupos 1 y 2 no exhibieron diferencia significativa del día 4 al 12 del ciclo estroal, aunque del día 16 al 20, los promedios fueron mayores en el grupo 2 ($P < 0.01$). Asimismo del día 4 a 26 de gestación tampoco se observaron diferencias entre los grupos 3 y 4 ($P > 0.05$), aunque las concentraciones declinaron ligeramente en las cerdas del grupo 4 de los días 16 al 24 de gestación. La longitud del ciclo estroal fue de 21.6 ± 1.07 y 20.77 ± 3.08 días para los grupos 1 y 2 respectivamente ($P > 0.05$). La duración del estro fue de 1.5 ± 0.52 y 3.22 ± 0.44 días para los grupos 1 y 2 respectivamente ($P < 0.01$). La tasa de fertilidad fue del 90 y 80 % para los grupos 3 y 4 respectivamente. El promedio de embriones implantados a los 35 días de gestación fue del 10.23 ± 3.58 y 11.63 ± 2.08 para los grupos 3 y 4 respectivamente. La diferencia fue de 1.4 embriones, representando un mejoramiento del 13 % en la tasa de implantación a favor del grupo 4. La tasa de mortalidad embrionaria fue del 23.54 y 13.68 % para los grupos 3 y 4 respectivamente, lo que representa el 76.46 y 86.35 % en la sobrevivencia embrionaria a los 35 días de gestación. Ninguno de estos valores resultó significativo estadísticamente. Se concluye que la aplicación de 2 mg de CE durante los días 12 y 13 a cerdas ciclando no extendió la función lútea más allá de 24 días, aunque se observó una

mayor duración del estro post-tratamiento. Esto representa un efecto luteoprotector parcial, apoyado en los niveles plasmáticos de progesterona más altos en los días 16 al 20 del ciclo estral. En las cerdas gestantes tratadas con CE, la tasa de fertilidad disminuyó, pero el promedio de embriones implantados y la tasa de sobrevivencia embrionaria aumentaron. Esta tendencia puede indicar por un lado, que la diferencia en el grado del desarrollo embrionario en los días del tratamiento podría ser un obstáculo para la aplicación rutinaria de este método. En cuanto al hecho de haber observado un incremento en la tasa de implantación sugiere futuros estudios en un tamaño de muestra mayor de cerdas primerizas.

I. INTRODUCCION

La eficiencia de los sistemas de producción porcina esta basada en la función reproductiva del pío de cría (21,23).

En años recientes se ha incrementado la tasa de desecho de las cerdas primerizas debido principalmente a su baja productividad, manifestada entre otros aspectos, por un menor número de lechonos nacidos (21). La tasa de desecho establecida en ésta especie es del 30 al 35% anual, representando las cerdas de reemplazo el 20% (39). Asimismo, a nivel nacional, un gran porcentaje de las pérdidas económicas proviene de las cerdas primerizas (85).

Por otro lado, el elevado costo de una cerda primeriza incapacita al porcicultor a reemplazar las cerdas que desecha por baja productividad, situación que aunada al alto costo del alimento hacen incosteable el sostenimiento de las granjas porcícolas (21). Debido a la situación anterior, es necesario tomar medidas para mejorar la eficiencia reproductiva de las cerdas primerizas.

Una de las variables que más impacto tienen sobre la eficiencia reproductiva de la cerda primeriza es el tamaño de la camada. Guerra (39) señala que un promedio de 8 lechonos al nacimiento es aceptable en nuestro país para

cerdas de primer parto ; sin embargo, con los costos actuales de producción será necesario incrementar este parámetro reproductivo.

Existe una serie de factores que determinan el tamaño de la camada en la cerda, entre los que se incluyen, el manejo reproductivo de la cerda y del verraco, estado nutricional, calidad genética, medio ambiente y condiciones generales de la granja (14).

Se ha estimado que el potencial ovulatorio de la cerda primeriza (16 óvulos), aunque menor que el de la cerda adulta (25 óvulos) (48), no es un obstáculo para obtener un adecuado número de lechones al nacimiento debido a que en la especie porcina la fertilización llega a exceder el 90 % (15). Esto indica que la causa principal del reducido tamaño de la camada es la pérdida embrionaria que ocurre en los primeros 30 días de gestación y que llega a afectar hasta un 40 % del total de los embriones (18,28).

Existen varias causas de mortalidad embrionaria durante la gestación temprana, entre las que se cuentan las aberraciones en la fertilización (49), insuficiencia lútea (42), falta de espacio uterino (25), enfermedades (60) y un desbalance endócrino-fisiológico entre el embrión y el endometrio de la cerda (81).

Estudios recientes sobre la anatomía uterina y tipo de placentación (25), migración intrauterina (35), síntesis de estrógenos, elongación y adhesión del embrión al endometrio (6,34), Han demostrado que juegan un papel importante en el establecimiento y mantenimiento de los embriones durante la gestación temprana de la cerda (59). Lo anterior ha producido un conocimiento básico que permite pensar en la posibilidad de incrementar el tamaño de la camada (81,106).

Geisort et al. (34) señalan que uno de los aspectos más importantes en la interacción entre el endometrio y el embrión porcino es la síntesis de estrógenos de origen embrionario, los cuales juegan un papel importante en el reconocimiento de la gestación, implantación y desarrollo uterino, ya que la secreción de ésta hormona por parte del embrión, repercute directamente en la actividad secretoria endometrial de sustancias necesarias para su desarrollo morfológico. Además se sabe que en la cerda, a diferencia de otras especies, los estrógenos actúan como una hormona luteotrópica ya que evitan la regresión del cuerpo lúteo (8) . Esta acción es importante para que se lleve a cabo el reconocimiento de la gestación y se logre la persistencia de la función lútea que se requiere para que la gestación se mantenga.

La importancia de los estrogénos en el establecimiento de la gestación ha llevado a proponer la administración exógena de ésta hormona en las etapas tempranas del desarrollo del embrión porcino con la finalidad de mejorar su sobrevivencia en el lúmen uterino (18,28,75)

La aplicación de estrógenos sintéticos o naturales en los días 12 a 14 de gestación ha dado resultados consistentes, dependiendo de la dosis y duración de la aplicación, sobre el mejoramiento de la sobrevivencia embrionaria (81) y un consecuente incremento del tamaño de la camada entre 1.2 lechones (106) hasta 1.96 lechones nacidos por camada (64).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de 1 mg de cipionato de estradiol en los días 12 y 13 del ciclo estral y de gestación sobre los niveles plasmáticos de progesterona y número de embriones en cerdas primerizas.

II. REVISION DE LITERATURA

1. ASPECTOS REPRODUCTIVOS DE LA CERDA PRIMERIZA

1.1. Regulación endócrina del ciclo estral

El ciclo estral de la cerda tiene una duración promedio de 21 días con un rango de 18 a 25 días; el período de estro generalmente es de 2 a 3 días y la ovulación es espontánea ocurriendo en el último tercio del estro (36 a 42 horas) (48,66)

Para el estudio de los mecanismos endocrinos que regulan el ciclo estral de la cerda es necesario dividirlo de acuerdo a una secuencia cronológica. Foxcroft y Van de Wiel (31) proponen las siguientes fases :

- a) Fase folicular temprana
- b) Fase folicular tardía (oleada preovulatoria de gonadotropinas)
- c) Fase posovulatoria
- d) Inicio de la fase lútea
- e) Regresión lútea

a) Fase folicular temprana

El desarrollo del folículo hasta el inicio de la formación del antro folicular no depende estrictamente del estímulo de las gonadotropinas. Posteriormente, la formación del antro y el crecimiento folicular es un proceso continuo dependiente totalmente de la secreción de la FSH y LH (31, 42, 48, 66).

La presencia de folículos antrales a través de la fase lútea sugiere que ésta, parece sobreponerse a la fase folicular en la especie porcina (31). Aunque Van de Wiel et al. (102) señalan la posibilidad de la existencia de un bloqueo por parte de la progesterona en el desarrollo folicular y que los patrones de cambio en la secreción de la FSH y LH, son consecuencia indirecta de la variación de los esteroides circulantes.

Anderson et al. (2) indican que la actividad esteroidogénica del folículo de la cerda sigue un patrón similar al propuesto en la rata, en la cual el inicio de la respuesta del tejido folicular depende de la LH, estimulando la producción de estrógenos por las células de la teca interna. Posteriormente el mantenimiento de la actividad esteroidogénica está basada en la conversión de andrógenos (testosterona) a estrógenos (17- β estradiol) a través de la acción de la enzima aromatasa a nivel intracelular en el

tejido de la granulosa. Mahojam et al. (63) mencionan a la progesterona como la fuente precursora de la esteroidogénesis en el tejido folicular de la cerda.

En observaciones iniciales realizadas por Karlhom et al. (52) se demostró que, como en otras especies domésticas, en la cerda la declinación de los niveles de progesterona se asocia con un incremento en la frecuencia y un decremento en la amplitud de la LH episódica, al igual que una disminución gradual de los niveles de FSH circulantes.

b) Fase folicular tardía (oleada preovulatoria de gonadotropinas)

La elevación de los estrógenos circulantes entre los días 17 a 19 del ciclo estral es propuesta como el estímulo para la retroalimentación positiva sobre el hipotálamo, lo que causa el pico preovulatorio de LH (46, 102). Al elevarse los estrógenos hay un período de latencia que culmina con la oleada preovulatoria de LH, la cual ocurre alrededor de 50 a 55 horas después de que los estrógenos alcanzan niveles máximos (48). Sin embargo, otros autores (31, 48, 66) han encontrado una primera elevación en los niveles de estradiol en la circulación periférica que ocurre aproximadamente de 8 a 15 horas antes de la oleada preovulatoria de LH. Posteriormente se presenta otro incremento significativo en la secreción del estradiol, que coincide con el inicio del período de estro de la cerda primeriza.

Hafez (42) indica que el tratamiento con estradiol a cerdas ovariectomizadas, resulta al principio en el decremento de los niveles de LH (retroalimentación negativa) y posteriormente en la oleada típica de la LH (retroalimentación positiva). Estos resultados concuerdan con las observaciones de Foxcroft y Van de Wiel (31) quienes mencionan que el incremento en los niveles de estradiol resulta inicialmente en la supresión completa e inmediata en la liberación de la LH episódica en contraste con un efecto inhibitorio en la secreción de la FSH.

La relación temporal entre el comportamiento típico de estro y el momento de la oleada preovulatoria de la LH aparentemente es variable, ya que el inicio del estro puede ocurrir desde 12 horas antes hasta 12 horas después de la oleada preovulatoria de LH (48). Por otra parte, Hunter (49) establece un intervalo entre la oleada de LH y la ovulación de 36 a 42 horas. Estos resultados combinados sugieren que la relación entre el inicio del estro y la ovulación puede variar considerablemente en la especie porcina.

Van de Wiel et al. (102) señalan que comparada con otras especies domésticas, la oleada preovulatoria de LH en la cerda está caracterizada por un incremento moderado pero de duración considerable, lo que repercute en la expresión de un período de estro largo (2 a 3 días).

Por otro lado el número de receptores para la LH presente en la granulosa se incrementa aproximadamente de 300 en los folículos pequeños a 10 000 en los folículos preovulatorios (42). Hughes y Varley (48) señalan que el incremento gradual de la acción de LH en el tejido folicular estimula el aumento de la actividad de la enzima adenil ciclasa en las células de la granulosa.

Hansel et al. (43) indican que el incremento de receptores para LH en las células de la teca interna preparan la luteinización de estas células junto con las de la granulosa como respuesta a la oleada de la LH. Asimismo, esta elevación sigue a una rápida declinación en la producción del estradiol y finalmente la ovulación (12).

Fernández y Gimeno (26) observaron la relación entre la oleada preovulatoria de la LH y el incremento en la concentración de las catecolaminas, sugiriendo la posibilidad de que éstas últimas hormonas actúen como mediadores en la actividad metabólica de la teca interna al momento de la ruptura folicular.

c) Fase Posovulatoria

Después de la ovulación los niveles de la LH son bajos, en contraste con un incremento marcado en la concentración de la FSH alrededor de 30 a 50 horas después de la ruptura folicular (31). Hafez (42) sugiere que este aumento en la

liberación de FSH provoca la formación del antro folicular en la población de folículos destinados posiblemente a la ovulación en el siguiente ciclo. Van de Wiel et al. (102) señalan que la elevación posovulatoria de FSH es debida a los bajos niveles del estradiol observados en ésta fase. El bloqueo de la inhibina dentro del fluido folicular después de la ovulación es sugerido también como estímulo para la elevación de FSH (13).

Por otra parte, los niveles de progesterona aumentan gradualmente asociándose con la estabilización y ligera declinación de las concentraciones de FSH y el inicio de la liberación episódica de LH de gran amplitud y baja frecuencia (10).

d) Inicio de la fase lútea

En la especie porcina el mantenimiento de la función lútea determina la longitud del ciclo estral, siendo los cambios en los niveles de progesterona el mejor indicador de los eventos endocrinos de ésta fase (102). El inicio de la secreción de progesterona, generalmente es detectada a partir del día 3 o 4 del ciclo estral (42, 48). Existe una gran variabilidad con respecto a la máxima concentración de la progesterona en la circulación periférica. Algunos estudios sugieren que los niveles periféricos pueden llegar a la máxima concentración en el día 10 del ciclo estral (15,

109), aunque la mayoría señala que ésto ocurre hasta el día 16 del ciclo (52, 66, 102). La frecuencia de la toma de muestras sanguíneas podría explicar estas diferencias. Asimismo se ha sugerido que los patrones de secreción de progesterona en cerdas con ciclos estrales normales difieren durante las estaciones del año (31).

La medición de los niveles de progesterona en la sangre venosa utero-ovárica ha resultado en datos similares a los observados en la sangre periférica (42). Masuda et al. (65) y Magness et al. (62) señalan niveles máximos de progesterona en la sangre venosa ovárica entre los días 10 a 12 declinando lentamente en los días 13 a 16 del ciclo estral.

La necesidad de un apoyo luteotrópico durante la fase lútea ha sido ampliamente estudiada, existiendo gran controversia entre los diferentes trabajos. Watson y Leask (103) denotan que la actividad esteroidogénica del tejido lúteo porcino in vitro con infusiones de LH incrementa la secreción de progesterona y estrógenos. Sin embargo, después de la ovulación y hasta el día 12 del ciclo estral, el funcionamiento del cuerpo lúteo de la cerda es autónomo con respecto a las gonadotropinas, ya que la hipofisectomía temprana o el tratamiento con antisuero de LH no afectan la función lútea (95).

Durante la fase lútea media se ha sugerido una posible relación entre la secreción episódica de LH y el inicio de la producción de estradiol (102). Durante ésta fase se observan pulsos de LH de gran amplitud y baja frecuencia (42), asimismo existe la posible asociación entre la LH y la prolactina en el control de la actividad lútea (109).

e) Regresión lútea

Como en otras especies, la prostaglandina F2 α (PGF) en la cerda ha sido propuesta como la hormona luteolítica, la cual actúa alrededor del día 16 del ciclo estral (31, 48). Bazer et al. (7) indican que la cerda es insensible a la PGF antes del día 14 del ciclo estral. Kotwica (57) propone que la PGF inactiva algunos componentes del mecanismo estimulador de la LH sobre el cuerpo lúteo. Ziecik et al. (108) observaron un decremento drástico en la ocupación de receptores para la LH en el tejido lúteo después del día 13 del ciclo estral. Estas evidencias sugieren que la regresión del cuerpo lúteo pueda deberse a una deficiente acción de la LH por efecto del bajo número de receptores ocupados, resultando en la declinación de los niveles de progesterona que ocurre a partir del día 16 del ciclo estral en la cerda.

Guthrie et al. (41) señalan que el estímulo inicial luteolítico proveniente del útero puede activar la producción local de PGF dentro del cuerpo lúteo, reforzando el mecanismo de la regresión lútea.

La fase lútea tardía en la cerda contrasta con otras especies domésticas debido a la habilidad de los estrógenos exógenos para bloquear el efecto luteolítico de la PGF y extender la función lútea (28, 34, 109). Bazer et al. (5) señalan que el mecanismo por el cual los estrógenos ejercen el efecto luteotrópico, involucra un cambio en la dirección de la secreción de la PGF parecido al propuesto en la gestación temprana de la cerda. Otro estudio (108) sostiene que la aplicación de los estrógenos a partir del día 11 del ciclo estral, causa un aumento en el número de receptores para la LH en el tejido lúteo, permitiendo la continuación de la función lútea.

1.2. Establecimiento de la gestación

El inicio de la gestación involucra la fertilización del óvulo por el espermatozoide (66). Hunter (49) indica la existencia de una serie de componentes importantes en la fertilidad de la cerda, los cuales incluyen el momento de la ovulación, el número de óvulos maduros, transporte y almacenaje de los espermatozoides en el aparato genital de la cerda, efecto de la monta o inseminación tardía sobre la fertilización y desarrollo embrionario, influencia de la edad del espermatozoide y la frecuencia de la monta.

Los eventos fisiológicos propios de la gestación en la especie porcina comienzan con la migración del óvulo fecundado a partir de la ampolla del oviducto hacia los cuernos uterinos alrededor de 48 a 72 horas después de la fertilización, en el estado de mórula de cuatro células (7, 22). Los embriones alcanzan el estado de blastocisto en el día 5 y la zona pélucida es desprendida aproximadamente entre los días 6 y 7. Alrededor del noveno día algunos embriones migran al cuerno uterino opuesto y empiezan a alargarse del estado esférico (0.5-1 mm de diámetro) en el día 10, hasta filamentosos (700-1000 mm de longitud) entre los días 12 a 14 de gestación (1, 6, 35).

La distribución equidistante de los embriones a través de la longitud de los cuernos uterinos es acompañada por el crecimiento del endometrio, manteniéndose la adhesión inicial entre el blastocisto y el útero de la cerda (6).

Dziuk (22) señala que cuando una porción significativa de los cuernos uterinos no es ocupada antes del día 12 de la gestación, ésta no puede continuar independientemente del número de embriones presentes en la sección ocupada.

La posición de los embriones dentro de los cuernos uterinos es determinante para su sobrevivencia. Los embriones que se localizan a la entrada de los cuernos uterinos antes del día 25 tienen mayor espacio, no así los embriones que se localizan en el centro, los cuales son los que comunmente mueren o son pequeños al nacimiento (15).

La regulación endócrina durante la gestación temprana en la cerda esta basada principalmente en la prolongación de la función del cuerpo lúteo y de la secreción continua de la progesterona (6, 48). El cuerpo lúteo de la cerda es independiente del control pituitario antes del día 14 de gestación (28), posteriormente existe una aparente dependencia del cuerpo lúteo con respecto a la LH, ya que los niveles de LH son elevados en las cerdas gestantes (109). La concentración de progesterona periférica es idéntica en cerdas gestantes y no gestantes hasta el día 14, declinando en cerdas gestantes entre los días 14 a 18 e

incrementándose gradualmente hasta el día 25 y permaneciendo constante la mayor parte de la gestación de la cerda (31,89).

Ford et al. (29) evaluaron los niveles del 17- β estradiol y sulfato de estrona en la vena utero-ovárica en los días 11, 13 y 15 del ciclo estral y gestación, observando mayor concentración de estrógenos en cerdas gestantes en los días 11 y 13.

Moelijono et al. (69) detectaron un incremento en la concentración del 17- β estradiol (20 pg/ml) en la vena utero-ovárica en cerdas gestantes en los días 12 a 14 en contraste con cerdas no gestantes (5 pg/ml).

Perry et al. (77) describen la conversión de la progesterona a estrógenos por el blastocisto porcino. El metabolismo de la progesterona es confirmado por Knight et al. (55), quienes observaron diferencias significativas entre los niveles de progesterona en la arteria uterina y la vena utero-ovárica, indicando la degradación de ésta hormona en el endometrio y/o embrión. Fisher et al. (27) demostraron el metabolismo esteroidal en los días 10 a 25 de la gestación, observando que el endometrio de la cerda convierte la progesterona a andrógenos y estrógenos conjugados, los cuales funcionan como precursores para la síntesis de los

estrógenos libres y catecol-estrógenos por el tejido embrionario. El porcentaje de conversión de sulfato de estrona a estrona fue del 20 % y a estradiol del 80 % (53).

Recientemente se ha demostrado el metabolismo esteroideal en cerdas gestantes con base en la comparación de concentraciones de progesterona periférica en la vena utero-ovárica de cerdas gestantes y cerdas histerectomizadas. Un incremento de ésta hormona se observó a partir del día 14 al 18 de gestación en la vena utero-ovárica y un decremento hasta del 40 % en los niveles periféricos en las cerdas preñadas, en contraste con niveles altos y sostenidos en la sangre periférica de las cerdas histerectomizadas (61).

Por otro lado, varios estudios sugieren que el embrión porcino tiene la capacidad para sintetizar estrógenos, los cuales son necesarios para el establecimiento y mantenimiento de la gestación temprana en esta especie (7, 34, 77)

Broks et al. (11) señalan que el aumento en la concentración de las enzimas sulfotransferasa, dehidrogenasa y aromatasa, así como la declinación de receptores nucleares para los estrógenos en el tejido embrionario, son

característicos de la elongación del blastocisto porcino. Estas observaciones coinciden parcialmente con Perry et al. (77) quienes demuestran la producción de otras enzimas, como la fosfatasa ácida, necesarias para el desarrollo del blastocisto.

Neimman y Elsaesser (75) indican que el $17-\beta$ estradiol es necesario para la transformación del estado de mórula a blastocisto temprano. Esto es debido al efecto estimulatorio de los estrógenos sobre la diferenciación y división celular. Asimismo, el incremento de la síntesis de estrógenos por el blastocisto alrededor del día 9 de la gestación, está relacionado con el alargamiento de la forma esférica a la filamentosa (42). Lo anterior es consistente con la aplicación del antiestrógeno nafoxidine, ya que inhibe el desarrollo del blastocisto in vitro en el decimo día (76).

La síntesis de los estrógenos por el tejido embrionario durante los días 11 a 12 de gestación es propuesta como la señal del reconocimiento materno de la gestación en la especie porcina (5, 45). Este concepto es apoyado por la evidencia de que la administración de benzoato o valerato de estradiol en los días 11 a 15 del ciclo estral, provoca la extensión de la función lútea más allá de 60 días, la cual se manifiesta por una pseudogestación (32,36). Geisert et al. (37) sugieren que el mantenimiento artificial de la

función lútea en cerdas no gestantes, requiere 2 períodos de estimulación de los estrógenos exógenos, el primero en el día 11, cuando el endometrio responde por primera vez a esta estimulación, seguido de un segundo período después del día 14 del ciclo estral. Estos estudios concuerdan con los patrones normales de liberación de estrógenos por el blastocisto durante la gestación temprana.

El incremento del flujo sanguíneo uterino también está asociado con el aumento de los estrógenos producidos por el embrión (30). Los cambios en el flujo sanguíneo son el resultado de la alteración en el tono y contractilidad de la arteria uterina debidos al bloqueo de los iones de calcio en la musculatura lisa de las arterias (96). Ford et al. (30) aplicaron intrauterinamente 17- β estradiol cada 6 horas, observando un incremento de 8 a 18 veces el flujo sanguíneo uterino a partir del día 11 hasta el día 18 del ciclo estral de la cerda. Estos resultados son similares a los indicados durante la gestación temprana en los días 12 y 13 (34), asimismo, este incremento en el flujo sanguíneo coincide con el aumento de la permeabilidad vascular del endometrio de la cerda (44). Keys y King (54) señalan la relación temporal y localizada entre el aumento de la permeabilidad vascular del endometrio y el embrión porcino a partir del día 12 de gestación.

Durante el establecimiento de la gestación se ha propuesto que la actividad de secreción exócrina del

endometrio (producción de histotrofo) es una función dependiente de los estrógenos de origen embrionario (6). Flint et al. (28) indican que la naturaleza no invasiva de la placenta de la cerda podría explicar los grandes requerimientos nutricionales del embrión.

La secreción endometrial contiene una serie de productos necesarios para el desarrollo morfológico del embrión durante la gestación temprana, entre los cuales se encuentran: Proteínas (utero ferrina y fosfatasa), electrolitos (K, Na), esteroides (progesterona y sulfato de estrona), prealbuminas, riboflavina, retinol, calcio y prostaglandinas E y F (15, 34). Estudios actuales mencionan además que el fluido uterino contiene polipéptidos ácidos y el inhibidor de la plasmina (24, 107). Bazer et al. (6) señalan que algunos de estos productos pueden facilitar el paso de otras sustancias para el crecimiento óptimo del embrión. Cabe mencionar que de las proteínas producto de la secreción endometrial, la utero ferrina ó proteína purpura es la de mayor importancia para el crecimiento del embrión debido a que transporta hierro del endometrio al blastocisto, observándose su máxima producción entre los días 12 a 25 de gestación (4).

Geisert et al. (37) indican que la sensibilidad del endometrio a la aplicación de estrógenos ocurre hasta

después del día 10 del ciclo estral. De acuerdo con este concepto Bazer et al. (6) demostraron la habilidad de los estrógenos exógenos en los días 11 a 15 del ciclo estral para estimular la secreción de proteínas, calcio y otros productos similares a los encontrados durante la gestación temprana de la cerda.

Otro aspecto importante en la interacción del embrión y el endometrio es la regulación de receptores para los estrógenos, ya que al incrementarse la producción de esta hormona se estimula la síntesis endometrial de receptores para ella misma, potencializando la secreción de las glándulas endometriales (28). En otras especies como la rata y borrega, la concentración de progesterona en el endometrio regula los niveles de receptores para los estrógenos alrededor del día 12 de gestación (42).

Young et al. (107) indican que el calcio y el guanosin monofosfato cíclico (GMPc) pueden ser los mediadores principales de la estimulación estrogénica sobre la respuesta de la secreción endometrial, además de que pueden haber otros mecanismos reguladores como los agentes adrenérgicos (dopamina y noradrenalina) y algunos iones.

El mantenimiento de la función lútea ó rescate del cuerpo lúteo antes del día 12 de gestación se lleva a cabo por la inhibición del mecanismo de acción de la luteolisina (PGF)

producida por el endometrio en la cerda. Bazer et al. (5) indican que la infusión de indometacina que es un inhibidor de la PGF en el día 12 del ciclo estral resulta en la prolongación de la función lútea de la cerda. Existen actualmente trabajos sobre el bloqueo, metabolismo y redirección de la liberación de la PGF como respuesta a los estrógenos de origen embrionario (5, 36).

Los niveles de la PGF en la sangre venosa uterina se encuentran significativamente reducidos en las cerdas preñadas en los días 12 a 16 de gestación en comparación con cerdas no gestantes (66,69).

Por otro lado, se ha argumentado que el bloqueo de la acción luteolítica de la PGF puede deberse a una redirección en su secreción, es decir, el útero gestante de la cerda secuestra ésta hormona en el lúmen uterino para que no pase a la circulación local entre el útero y el ovario (5). lo anterior es apoyado por Bazer et al. (8) quienes señalan que la PGF total recuperada en el fluido uterino es mayor en cerdas ciclando tratadas con estrógenos que aquellas cerdas no tratadas en los días 12 a 14 del ciclo estral. Aunque existe cierta controversia ya que Shille et al. (94) señalan un incremento en la concentración del metabolito 15-keto-13-11 dehidroprostaglandina F 2 α en la sangre periférica de la cerda primeriza gestante entre los días 11 a 25.

Una vez establecido el balance endócrino-fisiológico entre el endometrio y el embrión porcino para que se lleve a cabo el reconocimiento de la gestación, la implantación es el siguiente evento. Aunque se ha indicado que el contacto inicial temporal entre el blastocisto y el epitelio uterino ocurre a partir del día 10, no es hasta el día 14 de gestación cuando se observan las membranas embrionarias en contacto propiamente con el endometrio materno (54). Los cambios en la morfología epitelial del endometrio en el sitio de la implantación son una evidencia del efecto local de los estrógenos de origen embrionario (6). El crecimiento posterior del embrión está determinado por el incremento de la vascularidad endometrial y por el intercambio de productos entre la madre y el embrión (28).

Pope et al. (80) denotan que durante el periodo de implantación, la histamina secretada en el endometrio por el efecto de los estrógenos de origen embrionario, causa un incremento en la permeabilidad del endometrio.

1.3. Mortalidad embrionaria durante la gestación

El potencial reproductivo en la especie porcina está representado por el número de lechones al nacimiento. Sin embargo, de entre las especies domésticas, la cerda es la que sufre mayor pérdida embrionaria en los primeros 30 días de gestación (58, 81). La mayoría de los estudios indican que del 30 a 45% de los embriones mueren antes o durante la embriogénesis (23, 28, 42, 48) (cuadro 1). Durante este período ocurren procesos muy importantes como el reconocimiento materno de la gestación , la formación del mesodermo, la elongación del blastocisto, la adhesión del embrión al endometrio y el incremento de la secreción de varias proteínas endometriales específicas para el desarrollo del embrión (1, 3), por lo que cualquier falla en alguno de dichos procesos, puede causar la muerte, sin excluir la posibilidad de que la pérdida embrionaria pueda ser causada por anomalías en la fertilización del óvulo o por condiciones precarias de manejo en las granjas (60).

Cuadro 1. ESTIMACIONES DEL MOMENTO Y MAGNITUD DE LA PERDIDA PRENATAL DE ACUERDO A DIFERENTES AUTORES

CERDA	DIA DE GESTACION *	MORTALIDAD (%) a	REFERENCIA
Adulta	parto	27	Hammond, 1914
Adulta	14-16	33	Hammond, 1921
Adulta	parto	44	Casida, 1956
Primeriza	parto	40	Perry, 1954
Primeriza	20	50	Baker, 1956
Adulta	parto	41	Lasley, 1957
Adulta	28	39	King, 1957
Primeriza	25	34	Lerner, 1957
Primeriza	55	23	Reddy, 1958
Primeriza	25	48	Baker, 1958
Primeriza	25	38	Day, 1959
Adulta	parto	39	Pomeroy, 1960
Primeriza	13-40	28	Perry, 1962
Adulta	36	46	Marable, 1967
Adulta	13	30	Scofiel, 1974
Adulta	25	17	Dyck, 1974
Primeriza	9-18	17	Anderson, 1978

* Día de la gestación en el que se sacrificaron las cerdas.

a Mortalidad determinada por comparación entre el número de cuerpos lúteos y el número de productos.

Las aberraciones cromosómicas son la primera causa de muerte embrionaria y generalmente se piensa que contribuyen hasta con el 10 % de la pérdida total (81). Hunter (49) afirma que las aberraciones cromosómicas pueden ser inducidas por la fertilización poliespérmica, como en el caso de la monta o inseminación tardía. Las aberraciones cromosómicas también se pueden inducir con el tratamiento con progesterona durante 24 a 36 horas antes de la ovulación (17). Bouter et al. (9) sugieren que la mortalidad embrionaria debida a desordenes de los cromosomas antes del día 9 es poco importante, ya que estudios de recuperación de embriones en diferentes días de gestación indican la mayor pérdida después del día 10 de gestación.

Otro factor importante que afecta la sobrevivencia embrionaria es el balance endócrino-fisiológico entre el útero y el embrión (6, 48, 106). Como ya se mencionó, la síntesis de estrógenos por el blastocisto se incrementa marcadamente entre los días 12 y 13 de gestación y promueve el espaciamiento del embrión, modulando la secreción de proteínas dentro del lúmen uterino (104). Morgan et al. (71) mencionan que en ocasiones hay una desincronización entre el estado morfológico del blastocisto y el medio ambiente uterino en los días 11 a 12 de gestación. Esta situación es debida a que los blastocistos porcinos más desarrollados producen estrógenos que estimulan la secreción endometrial

de ciertas sustancias, las cuales no pueden ser aprovechadas por los blastocistos menos desarrollados, incrementándose la tasa de mortalidad embrionaria en cerdas primerizas. Recientemente Fazleabas et al. (24) señalan que la sobrevivencia embrionaria en la cerda también está influenciada por la secreción de la sustancia llamada inhibidor de la plasmina producida por los blastocistos elongados más desarrollados, la cual llega a bloquear el crecimiento de los embriones esféricos menos desarrollados alrededor del día 11 a 12 de gestación. Cabe mencionar que la enzima plasmina es sintetizada por los blastocistos esféricos y está involucrada en la migración intrauterina y en el paso del estado morfológico de esférico a filamentoso.

Archibong et al. (3) indican una mayor conversión de la progesterona a estrógenos en cerdas servidas en el tercer estro puberal que en aquellas servidas al primer estro, sugiriendo que estos cambios sistémicos pueden estar relacionados con la mortalidad embrionaria temprana en las cerdas primerizas servidas al primer estro.

Anderson (1) señala que la capacidad del útero de la cerda impone un límite en el número de embriones implantados. Tal argumento es apoyado por Hughes y Varley (48), quienes indican que el embrión porcino en la etapa de adhesión (día 14) es más propenso a morir y ser reabsorbido totalmente. Sin embargo, estudios recientes muestran que la

sobrepoblación física puede resultar en la muerte de los fetos durante el último tercio de la gestación de la cerda (48,99), pero que es improbable que ocurra la pérdida embrionaria por sobrepoblación, antes del día 30 de gestación (81).

Bajo algunas circunstancias se puede elevar la tasa de mortalidad embrionaria. La temperatura ambiental elevada (estrés térmico) afecta el desarrollo del embrión, principalmente cuando la temperatura corporal de la cerda aumenta en 3 grados Centígrados (28).

McDonald (66) denota una mayor incidencia de muerte embrionaria en las cerdas primerizas expuestas a elevadas temperaturas de los 8 a 16 días después del apareamiento que en aquellas expuestas durante los días 0 a 8 posteriores a la monta. Hafez (42) reitera que el estrés calórico causa alteraciones en los mecanismos reguladores de la síntesis del RNA.

Por otro lado, el régimen de nutrición de la cerda, específicamente la ingestión energética está asociado con el incremento de la mortalidad embrionaria durante el periodo de implantación (23, 48), aunque no se ha comprobado totalmente que el plan inadecuado de nutrición, cause la muerte del embrión (14).

La sobrevivencia embrionaria también es afectada por las enfermedades afines al aparato genital de la cerda como la parvovirus, brucelosis y leptospirosis entre otras, o por la secuela de las infecciones sistémicas como la salmonelosis, cólera porcino, erisipela y pseudorabia, enfermedades que afectan la camada completa ó reducen el número de lechones al nacimiento (42,60).

2. INCREMENTO DEL TAMAÑO DE LA CAMADA EN CERDAS PRIMERIZAS

2.1. Tratamiento hormonal

Existen informes contradictorios de los efectos de la administración de hormonas, principalmente esteroides, sobre la sobrevivencia embrionaria y tamaño de la camada en la especie porcina (55, 67, 70, 106). Los resultados aparentemente dependen del tiempo y duración de la aplicación así como del tipo, combinación y relación de las hormonas utilizadas (59, 82).

Se ha postulado la relación entre el desarrollo del blastocisto y la síntesis temprana de los estrógenos, resultando en una alteración ventajosa en la actividad secretoria endometrial (histotrofe) (7, 81). McGovern *et al.* (67) señalan que el balance entre la progesterona y los

estrógenos controla la secreción de proteínas específicas en el endometrio, incrementando la sobrevivencia embrionaria durante la gestación temprana de la cerda primeriza.

Los primeros trabajos sobre el efecto de los esteroides sobre la sobrevivencia del embrión porcino fueron realizados en 1951 (59) aplicando progesterona en el día 16 de gestación, obteniendo resultados inconsistentes. Posteriormente Day et al. (17) observaron que altas dosis (750 mg) de progesterona tienen un efecto detrimental sobre el blastocisto antes de la implantación. Resultados similares indican Niemann y Elsaesser (75) con la aplicación de ésta hormona a dosis de 750 a 3000 mg por día en los primeros 7 días de gestación, observando que el 71 % de los embriones estaba en estado degenerativo y con retraso en su desarrollo. En contraste a estos datos, Piper et al. (78) argumentan que la aplicación de progesterona en dosis menores de 50 mg por día durante los días 15 a 21 de gestación aumentan el promedio de lechones nacidos en comparación con las cerdas gestantes no tratadas (10.4 contra 8.7 respectivamente), Schlegel et al. (92) señalan un incremento del tamaño de la camada y fertilidad con la administración de progesterona a dosis de 25 a 50 mg en el día 14 de gestación.

Por otro lado, la combinación de la progesterona con los estrógenos ha sido propuesta también para mejorar el número

de lechones al nacimiento en la cerda primeriza (18, 59, 74). Wild et al. (196) mencionan que la administración de progesterona (25 mg) y estrona (12.5 ug) en los días 12 a 14 posteriores al apareamiento, incrementa el promedio de lechones nacidos en 1.5 por camada. Asimismo Nauratil et al. (74) y De Sea et al. (18) con la misma combinación y dosis hormonal, sólo cambiando la aplicación a los días 16 y 17 de gestación, observaron un incremento del 22 al 28 % en el promedio de lechones nacidos por camada. Sin embargo, al elevar la dosis de estrona (18.75 ug) decreció en 8.7 % el total de lechones al nacimiento. McGovern et al. (67) indican un 15 % de aumento en la tasa de embriones implantados, volumen del líquido alantoideo y peso de la placenta con la aplicación de progesterona y estrona en los días 30 a 35 de gestación.

Por otro lado, Pope et al. (82) evaluaron la administración del 17- β estradiol a diferentes dosis sobre el desarrollo morfológico del blastocisto, indicando mejores resultados cuando es aplicado en los días 12 y 13 de la gestación en dosis de 2-8 mg por día, ya que con dicho tratamiento, el 88 % de los embriones sobrevivieron a los 30 días de gestación. En un trabajo posterior Pope et al. (84) encontraron que una dosis de 2 mg de 17- β estradiol aplicada en los días 12 y 13 de gestación en cerdas primerizas de granjas comerciales, mejoró la tasa de fertilidad y el número de lechones nacidos por cerda .

Martínez et al. (64) hallaron un incremento no significativo en el número de lechones al nacimiento en cerdas adultas a las que se les aplicó 0.5 mg de cipionato de estradiol en el día 12 de gestación. Sin embargo en este trabajo, se encontró un decremento de un 20 % en la tasa de fertilidad

La tolerancia del embrión porcino a la administración del 17- β estradiol fue evaluada por Pope y First (81) quienes mencionan que el porcentaje de sobrevivencia disminuye cuando los estrógenos exógenos son aplicados en los días 9 y 10 de gestación.

La utilización de diferentes estrógenos como el valerato de estradiol, 17- β estradiol, Benzoato de estradiol en los anteriores trabajos es debida a que difieren en potencia, vida media y espectro de acción entre otras cosas. Sin embargo, el estrógeno disponible en México es el cipionato de estradiol, preparación que ha sido aplicada en estudios preliminares (64) realizados en el departamento de reproducción. Asimismo estos trabajos sugieren que la dosis más adecuada de cipionato de estradiol es 2 mg, por lo que dicha dosis fue utilizada en la presente investigación.

III. MATERIAL Y METODOS

1. ANIMALES EXPERIMENTALES

La presente investigación se realizó en la Granja Experimental Porcina Zapotitlán de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se emplearon 80 cerdas híbridas F1 (Landrace x Yorkshire) y F2 (Landrace x Yorkshire x Hampshire x Duroc) con una edad promedio de 150 ± 3 días y un peso entre 82 y 87 kg. También se utilizaron tres verracos adultos híbridos entrenados en la granja para colección de semen y dos machos adultos híbridos con criptorquidismo inducido, que fueron utilizados como celadores.

Todos los animales fueron mantenidos en total confinamiento con el régimen nutricional y de manejo establecido en la granja rutinariamente. Las cerdas fueron alojadas en grupos de 10 animales por corral, vacunadas a su ingreso contra cólera porcino e identificadas por el seguimiento del sistema Hampshire de muescas en las orejas

2. GRUPOS EXPERIMENTALES

La asignación de las cerdas para la formación de los grupos experimentales fue completamente al azar. Se utilizaron 20 cerdas primerizas para cada grupo.

Los grupos experimentales fueron

Grupo 1: Integrado por cerdas en su segundo ciclo estral.

Grupo 2: Formado por cerdas en su segundo ciclo estral que recibieron la aplicación de cipionato de estradiol *, 1 mg por cerda por día, vía intramuscular en los días 12 y 13 del ciclo estral.

Grupo 3: Integrado por cerdas que fueron servidas con dos inseminaciones durante el segundo estro, con semen diluido en un volúmen de 100 ml. a una concentración de 5×10^9 espermatozoides.

Grupo 4: Formado por cerdas que fueron inseminadas igual que las del grupo 3, recibiendo además la aplicación de cipionato de estradiol, 1 mg por cerda por día, vía intramuscular en los días 12 y 13 de gestación.

* E.C.P. Marca Registrada por UPJOHN Tuco S.A. de C.V., México, D.F.

3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.1. Inicio y Sincronización del estro

Una vez establecida la lotificación de las cerdas a los 150 días de edad, se procedió a la inducción de la pubertad mediante la exposición a machos criptorquideos, la cual se realizó mediante la introducción rotativa por 20 minutos diarios durante 7 días (48). Diez días después del inicio de la introducción del macho infertil, el 90 % de las cerdas mostraron su primer estro puberal

3.2. Colección y Dilución de semen

La colección del semen de los tres verracos utilizados en la presente investigación fue rotatorio; Se colectó el semen por la técnica manual (50); Los criterios para la utilización del semen incluyeron: motilidad (mayor del 70 %), concentración por ml (mayor de 200×10^6), morfología (menor al 10 % de anomalías). La dilución consistió en preparar cada dosis con 5×10^9 espermatozoides diluidos en solución descongelante Beltsville (BTS) (51). El semen diluido se almacenó en caja de poliuretano entre 18 y 20 C y fue utilizado según el número de cerdas en estro. No se utilizó el semen para la inseminación después de 48 horas de haberse diluido.

3.3. Momento y Técnica de Inseminación

Las cerdas de los grupos 3 y 4 fueron observadas para la detección de su segundo estro dos veces al día (08:00 y 18:00 horas) utilizando el macho celador y haciendo la prueba del cabalgue (88). La primera inseminación se realizó después de haberse detectado el estro estático según el siguiente programa, si la cerda entraba en calor en la mañana del día 1, la primera inseminación fue llevada a cabo en la tarde del día 1 y la segunda inseminación en la mañana del día 2; si la cerda entraba en calor en la tarde del día 1, la primera inseminación fue realizada en la mañana del día 2 y la segunda inseminación en la tarde del día 2. El día 1 del calor fue el primer día en que la cerda aceptaba la monta por el verraco celador (87). La inseminación fue intracervical usando un cateter de hule latex según la técnica descrita por Melrose (56) y fue hecha en presencia del macho celador.

3.4. Toma de muestras sanguíneas

En todas las cerdas se colectaron muestras de sangre de la vena yugular utilizando una jeringa de plástico. La sangre fue depositada en tubos con vacío + con solución de heparina sódica (100). En las cerdas ciclando (grupos 1 y 2) la toma de muestras sanguíneas se realizó cada 48 horas durante toda la longitud del segundo ciclo estral, mientras que en las cerdas preñadas (grupos 3 y 4) el sangrado se realizó cada 48 horas desde el día del servicio hasta los 26 días de gestación. La sangre fue centrifugada inmediatamente después de su obtención a 3000 revoluciones por minuto durante 10 minutos. Una vez separado el plasma sanguíneo se conservó en congelación a -18 C hasta la evaluación de la concentración de progesterona por radioinmunoanálisis (109).

3.5. Radioinmunoanálisis (RIA)

La prueba de RIA se llevó a cabo en el laboratorio de endocrinología del Departamento de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

El procesamiento de las muestras fue por RIA en fase líquida a partir de un volúmen de 0.05 ml de plasma sanguíneo según la técnica descrita por Ramirez *et al.* (86), la sensibilidad del análisis fue del 15.62 pg/0.5 ml. El coeficiente de variación interanálisis para la concentración alta, media y baja fue del 9.30%, 13.40% y 23.8% respectivamente.

3.6. Variables Evaluadas

Las cerdas de los grupos 1 y 2 se observaron diariamente hasta que presentaron su segundo estro, registrando las variables de longitud del ciclo estral y duración de la conducta de estro y los perfiles de progesterona. posteriormente se enviaron a rastro.

Por otro lado, las cerdas que fueron inseminadas (grupos 3 y 4) se esperó a la no repetición del estro entre los 18 y 24 días en presencia del macho celador. Aquellas que no mostraron estro se sometieron al diagnóstico de gestación por ultrasonido a los 30 días (101). Las cerdas gestantes fueron enviadas al rastro a los 35 días de preñez, en donde se colocó el aparato genital, registrándose el número de cuerpos lúteos y embriones implantados.

3.7. Análisis Estadístico

El porcentaje de fertilidad y de muerte embrionaria fue analizado por medio de la prueba de Z (proporción de poblaciones). Los promedios de longitud del ciclo estral, duración del estro así como el número de cuerpos lúteos y embriones fueron analizados mediante la prueba de T (Student), Los niveles de progesterona fueron sometidos al análisis de varianza y a la prueba de Tukey (16).

IV RESULTADOS

A- Hembras Ciclando

La longitud del ciclo estral y duración del estro posterior al tratamiento con cipionato de estradiol en cerdas primerizas se muestra en el cuadro 2. Se observa que no existe un efecto del tratamiento sobre la longitud del ciclo estral ($P > 0.05$). Sin embargo la duración del período de estro fue considerable y estadísticamente más largo ($P < 0.01$) en las cerdas ciclando que recibieron el cipionato de estradiol.

Los niveles plasmáticos de progesterona en la sangre periférica de las cerdas ciclando no difirieron al comparar las cerdas tratadas y no tratadas con cipionato de estradiol entre los días 4 al 12 del ciclo estral ($P > 0.05$), alcanzando en ambos casos los máximos niveles de progesterona en el día 10 del ciclo estral (cuadro 3).

En las cerdas no tratadas con estrógenos se observó un decremento drástico a partir del día 16 llegando a niveles basales en el día 20 del ciclo estral (fig.1). En contraste, los niveles de progesterona en cerdas ciclando tratadas con cipionato de estradiol declinaron lentamente después del día 14 hasta el día 20 del ciclo estral, por ésta razón los niveles promedio de progesterona en los días 16, 18 y 20 del ciclo fueron estadísticamente superiores en las hembras tratadas con estrógenos en comparación a las hembras no tratadas ($P < 0.01$) (cuadro 3).

CUADRO 2. EFECTO DE LA APLICACION DE CIPIONATO DE ESTRADIOL SOBRE LA LONGITUD DEL CICLO ESTRAL Y DURACION DEL ESTRO EN CERDAS PRIMERIZAS.

TRATAMIENTO	LONGITUD DEL CICLO ESTRAL (DIAS) ($\bar{x} \pm D.E$)	DURACION DEL ESTRO POST-TRATAMIENTO (DIAS) ($\bar{x} \pm D.E$) *
Testigo (grupo 1)	21.6 \pm 1.07	1.5 \pm 0.52
Cipionato de estradiol 1 mg por cerda en los días 12 y 13 del ciclo estral (grupo 2)	20.77 \pm 3.08	3.22 \pm 0.44

* Valores estadísticamente diferentes ($P < 0.01$).

CUADRO 3. NIVELES PLASMATICOS DE PROGESTERONA (ng/ml) EN CERDAS CICLANDO

DIA DEL CICLO	CERDAS CICLANDO SIN ESTRADIOL (grupo 1)	CERDAS CICLANDO CON ESTRADIOL (grupo 2)
	X ± D.E	X ± D.E
4	6.40 ± 1.22	6.98 ± 2.82
6	8.96 ± 1.45	7.65 ± 3.62
8	11.21 ± 2.40	9.52 ± 2.87
10	13.94 ± 3.30	15.47 ± 2.27
12	12.38 ± 3.92	14.42 ± 2.50
14	9.66 ± 5.85	9.27 ± 5.09
16	2.15 ± 1.09 a	6.68 ± 5.31 b
18	0.55 ± 0.35 a	4.09 ± 3.96 b
20	0.51 ± 0.24 a	3.79 ± 3.23 b

Medias con diferente literal en el mismo renglón son estadísticamente significativas (P < 0.01)

B- Hembras Gestantes

El porcentaje de fertilidad en cerdas tratadas o sin tratamiento con cipionato de estradiol se muestra en el cuadro 4. El 10 % de diferencia en la tasa de fertilidad no fue significativo ($P > 0.05$).

En el cuadro 5, son presentados los resultados referentes al efecto del tratamiento con cipionato de estradiol sobre el promedio de embriones implantados, así como el porcentaje de mortalidad embrionaria a los 35 días de gestación. El promedio de embriones implantados fue más alto para las cerdas gestantes tratadas que para las cerdas gestantes no tratadas. La diferencia entre estos promedios fue de 1.4 embriones más a favor de las cerdas gestantes que recibieron la aplicación de cipionato de estradiol, sin embargo no se encontró diferencia estadística significativa ($P > 0.05$).

Se observa también en el cuadro 5 que el porcentaje de mortalidad embrionaria fue mayor para las cerdas gestantes no tratadas que para las cerdas gestantes que recibieron la administración de cipionato de estradiol, representando un 9.89 % menor en la tasa de mortalidad embrionaria a favor del grupo tratado. Sin embargo en este parámetro tampoco se encontró diferencia estadística significativa ($P > 0.05$).

Los niveles de progesterona en el plasma sanguíneo a partir del día 4 al 26 de gestación no variaron significativamente ($P > 0.05$) entre las cerdas gestantes no tratadas y tratadas con cipionato de estradiol según se muestra en el cuadro 6. La máxima concentración de progesterona para los dos grupos de cerdas gestantes fue en el día 12 después del servicio (Fig. 1). Posteriormente los niveles de progesterona declinaron ligeramente de los días 16 a 24 en las cerdas gestantes después del tratamiento con estrógenos en comparación con las cerdas no tratadas (cuadro 6).

CUADRO 4. EFECTO DEL CIPIONATO DE ESTRADIOL SOBRE LA FERTILIDAD EN CERDAS PRIMERIZAS INSEMINADAS DURANTE SU SEGUNDO ESTRO CON SEMEN DILUIDO

TRATAMIENTO	CERDAS INSEMINADAS	CERDAS GESTANTES	PORCENTAJE DE FERTILIDAD
testigo (grupo 3)	20	18	90
Cipionato de estradiol 1 mg por cerda en los días 12 y 13 de gestación (grupo 4)	20	16	80

No se encontró diferencia estadística ($P > 0.05$) entre los porcentajes de fertilidad

CUADRO 5. EFECTO DE LA APLICACION DE CIPIONATO DE ESTRADIOL SOBRE EL PORCENTAJE DE MORTALIDAD EMBRIONARIA Y PROMEDIO DE EMBRIONES IMPLANTADOS EN CERDAS PRIMERIZAS A LOS 35 DIAS DE GESTACION

TRATAMIENTO	CERDAS GESTANTES	CUERPOS LUTEOS ($\bar{x} \pm D.E$) *	EMBRIONES IMPLANTADOS ($\bar{x} \pm D.E$) *	MORTALIDAD EMBRIONARIA (%) * 1
Testigo (grupo 3)	18	13.38 \pm 1.66	10.23 \pm 3.58	23.54
Cipionato de estradiol 1 mg por cerda en los días 12 y 13 de gestación (grupo 4)	16	13.47 \pm 2.63	11.63 \pm 2.08	13.65

* No se encontró diferencia estadística significativa ($P > 0.05$).

1. Mortalidad determinada por la diferencia entre el promedio de cuerpos lúteos y el promedio de embriones

CUADRO 6. NIVELES PLASMATICOS DE PROGESTERONA (ng/ml) EN CERDAS GESTANTES

DIA DE GESTACION	CERDAS GESTANTES SIN ESTRADIOL (grupo 3)	CERDAS GESTANTES CON ESTRADIOL (grupo 4)
	X ± D.E.	X ± D.E.
4	6.21 ± 3.08	5.22 ± 2.09
6	8.15 ± 1.94	9.76 ± 2.51
8	9.86 ± 2.23	10.47 ± 2.45
10	12.69 ± 3.13	13.06 ± 5.17
12	15.74 ± 4.03	16.58 ± 2.92
14	15.20 ± 3.99	15.33 ± 4.34
16	14.94 ± 2.58	11.44 ± 4.53
18	12.98 ± 4.92	10.89 ± 3.19
20	12.84 ± 1.51	9.84 ± 3.10
22	12.17 ± 2.27	9.95 ± 2.36
24	10.12 ± 1.17	8.25 ± 2.54
26	8.72 ± 1.89	10.31 ± 2.21

No se encontró diferencia estadística entre grupos (P>0.05)

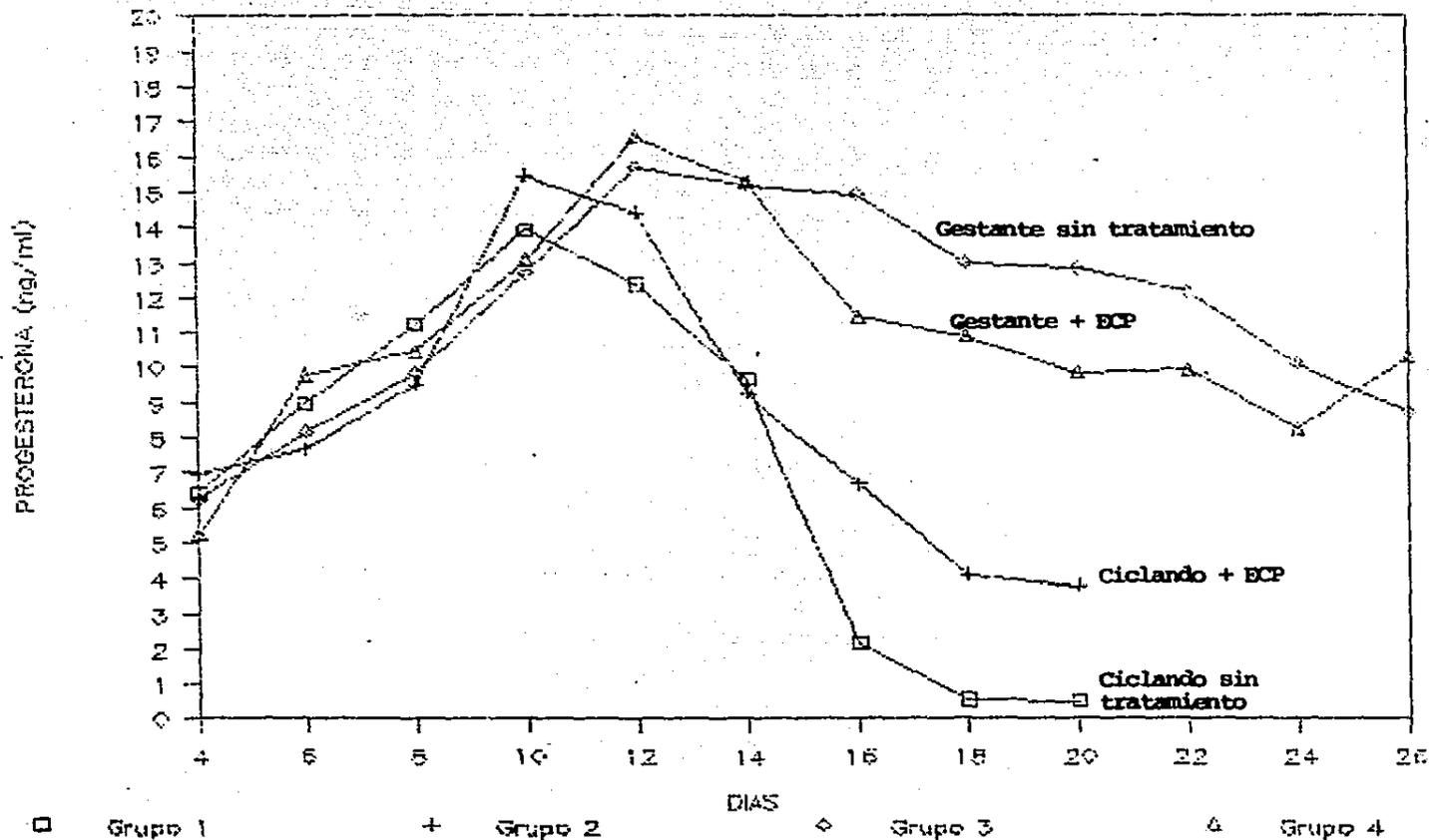


Fig.1 Niveles promedio de progesterona en cerdas primerizas ciclando o gestantes con tratamiento o sin tratamiento de 1mg de cipionato de estradiol en los días 12 y 13 post-estro.

V. DISCUSION

V.1. Efectos endócrinos

La administración de cipionato de estradiol a cerdas no gestantes causó cierto grado de protección del cuerpo lúteo contra la luteolisis ya que los niveles de progesterona durante el período de luteolisis (días 16 a 20 del ciclo estral) fueron significativamente mayores en la cerdas tratadas que en las no tratadas (cuadro 3). Sin embargo este efecto no fue lo suficientemente fuerte como para causar un alargamiento significativo del ciclo estral (cuadro 2). Estos resultados coinciden con los observados por Gardner et al. (33), quienes indican que dosis menores a 3 mg de estradiol en el día 12 del ciclo estral no extienden la función lútea más allá de 24 días. De acuerdo con este concepto, Geisert et al. (37) reiteran que la administración de 3 mg de 17- β estradiol por vía intramuscular en los días 11 y 15 no evita completamente la regresión del cuerpo lúteo. En contraste, dosis mayores de estradiol si son capaces de extender la función lútea ya que McGovern et al. (67), Zieciak et al. (109), Geisert et al. (36) y Doboszynska et al. (20) encontraron que la aplicación de estradiol en dosis

múltiples de 5 mg o únicas de 10 mg a partir del día 11 a 15 del ciclo estral de la cerda puede extender la función lútea, produciéndose una pseudogestación que puede durar hasta 70 días.

En el presente estudio se observó, entre los días 16 y 24 de la gestación una ligera disminución en los niveles de progesterona en cerdas gestantes tratadas con cipionato de estradiol en comparación con las no tratadas. Aunque éste efecto no fue significativo, es posible que sea debido a los estrógenos, ya que otros autores han encontrado algo similar. Así, Ziecik et al. (109) señalan que en cerdas tratadas con 5 mg de 17- β estradiol en los días 11 a 15 del ciclo estral los niveles de progesterona declinan ligeramente en los días 14 a 16 del ciclo estral, pero se vuelven a incrementar en los días 17 a 19, para mantener niveles constantes durante toda la pseudogestación de 70 días. Grant et al. (38) también denotan una declinación ligera en las concentraciones de progesterona en cerdas pseudogestantes inmediatamente después de la administración de 17- β estradiol.

El mecanismo por medio del cual los estrógenos causan ésta disminución transitoria en los niveles de progesterona puede ser a través de un efecto sobre la secreción de FSH/LH o a la modificación de los mecanismos intraóvaricos de regulación lútea. Doboszynska et al. (20) argumentan que en cerdas con

pseudogestación inducida con estrógenos la declinación temporal de las concentraciones de progesterona y su posterior incremento es debida a un bloqueo parcial de la síntesis de progesterona, ya sea a través de un decremento en la actividad del AMPc o por una reducción en el número y afinidad de receptores para la LH en las células lúteas. De acuerdo a ésta hipótesis, el bloqueo desaparece después de cierto tiempo, incrementándose la síntesis de progesterona necesaria para mantener el estado de pseudogestación de la cerda. En acuerdo con este concepto Flint et al. (28) indican que la aplicación de estrógenos exógenos reduce el efecto de la LH sobre el tejido lúteo a través de un fenómeno de regulación de receptores.

En cerdas gestantes no tratadas se ha observado una declinación en los niveles de progesterona entre los días 13 a 19 de gestación, probablemente debido al metabolismo de ésta hormona por el útero grávido (62). Fisher et al. (27) indican una reducción del 36 % en los niveles de progesterona en los días 13 y 16 de gestación asociada a la conversión de la progesterona a estrógenos en el endometrio. Es posible que la reducción no se deba directamente a la conversión de estas hormonas, sino que los estrógenos producidos endógenamente en las gestantes tengan un efecto inhibitorio sobre el cuerpo lúteo similar al que se ha encontrado al administrar

estrógenos exógenos a cerdas ciclando. Es necesario aclarar que en el presente estudio no se observó este decremento indicado en las cerdas gestantes no tratadas.

El hecho de que el tratamiento con cipionato de estradiol estimule la producción de progesterona en cerdas ciclando, pero no en cerdas gestantes, indica que este no es un efecto verdaderamente luteotrópico. Este efecto protector de los estrógenos exógenos solamente se observa en las cerdas que por no estar gestantes están expuestas a la acción luteolítica de la prostaglandina F 2 α , mientras que las cerdas gestantes no están expuestas a esta acción luteolítica debido a que han producido endógenamente estradiol y/o otras sustancias que confieren el efecto luteoprotector.

Por otro lado, la duración de la conducta del estro fue mayor en las cerdas ciclando que recibieron la aplicación del cipionato de estradiol en comparación con las cerdas no tratadas. Resultados similares no han sido indicados en esta especie y no son fáciles de explicar ya que los estrógenos se aplicaron en el día 12 y 13 del ciclo y el estro se presentó de 9 a 11 días después, por lo que se trataría de un efecto retardado de los estrógenos para el que no se tiene explicación. Sin embargo, Van de Wiel et al. (102) sugieren que el crecimiento de los folículos antrales a través de la

fase lútea media puede ser estimulado conforme cambie el patrón de secreción FSH/LH. Hughes y Varley (48) señalan que la aplicación de estrógenos exógenos tienen un efecto bifásico en la cerda; al inicio ejercen una retroalimentación negativa y posteriormente una retroalimentación positiva sobre el hipotálamo e hipófisis. De acuerdo con este concepto es posible, sin embargo que la aplicación de estrógenos exógenos alteró los procesos de foliculogénesis y esteroidogénesis resultando en una modificación en el sistema endócrino durante el período periovulatorio, lo que podría alterar la duración del estro ya que Foxcroft y Van de Wiel (31) indican que el comportamiento típico de estro puede diferir según la duración de la oleada preovulatoria de la LH, siendo ésta la que determinaría un período largo de estro en la cerda.

V.2. Efectos sobre la fertilidad

La tasa de fertilidad de las cerdas tratadas con cipionato de estradiol disminuyó en un 10 % en comparación con las cerdas no tratadas (cuadro 4). Martínez et al. (64) tuvieron resultados similares ya que observaron una disminución en la tasa de concepción del 21 % cuando administraron 0.5 mg de cipionato de estradiol en el día 12 de gestación en cerdas adultas.

No obstante a lo anterior, cuando se toman solamente a la cerdas que quedaron gestantes se observa que el porcentaje de mortalidad embrionaria fue menor en las que recibieron la aplicación del cipionato de estradiol. La diferencia en la tasa de mortalidad entre las cerdas gestantes no tratadas y tratadas con cipionato de estradiol fue del 9.89 % . El 13.65 % de mortalidad obtenido en las cerdas tratadas del presente estudio se encuentra por debajo del indicado para cerdas primerizas, que es del 30 al 45 % durante los primeros 30 días de gestación (3,48,81,101). Esto representa un porcentaje de sobrevivencia embrionaria mayor a favor de las cerdas gestantes tratadas con estrógenos sobre aquellas no tratadas (86.35 contra 76.46 % respectivamente). Resultados similares encontraron Pope y First (81) quienes indican el 88 % en la tasa de sobrevivencia embrionaria con la administración de $17-\beta$ estradiol en el día 13 de gestación.

Como consecuencia de la menor mortalidad embrionaria, el promedio de embriones implantados a los 35 días de gestación en el presente trabajo fue mayor aunque no significativo en las cerdas gestantes que recibieron cipionato de estradiol. La diferencia entre las medias de embriones implantados fue de 1.4 embriones a favor de las cerdas gestantes tratadas, lo que representa un mejoramiento en la tasa de implantación

embrionaria del 13 % en relación a las no tratadas. Estos resultados son similares a los señalados por McGovern et al. (67) quienes obtuvieron un 15 % de incremento en el tamaño de la camada al nacimiento en cerdas adultas. Asimismo, Martínez et al. (64) hallaron un aumento de 1.69 lechones nacidos por camada en cerdas gestantes tratadas con estrógenos. Wildt et al. (106) también mencionan un aumento en el promedio de lechones nacidos de 1.5 por camada en cerdas adultas.

Los resultados descritos anteriormente plantean dos efectos contradictorios de los estrógenos : por un lado existe una reducción en el porcentaje de fertilidad de cerdas que quedan gestantes, lo que podría interpretarse como un efecto anti-gestacional, mientras que existe un aumento en la sobrevivencia embrionaria, es decir un efecto pro-gestacional en aquellas cerdas que quedan gestantes a pesar del efecto anti-gestacional. Existen evidencias de que estos efectos contradictorios pueden deberse al estado de desarrollo en que se encontraban los embriones de cada cerda en el momento de la aplicación de los estrógenos ya que se conoce que los estrógenos son embriocidas si se aplican en estadios muy tempranos de desarrollo (días 9 a 11). Estas diferencias en desarrollo pueden ocurrir debido a que no existe una correlación estricta entre desarrollo embrionario y edad cronológica, ya que Anderson (1) afirma que los embriones

porcinos individualmente pueden exhibir diferencias en su desarrollo morfológico por más de 24 horas. Esto es consistente con los resultados obtenidos por Morgan et al. (71) los cuales muestran que en el día 12 de gestación de la cerda se encuentran en el lúmen uterino blastocistos esféricos (menos desarrollados) y filamentosos (más desarrollados) en diferentes proporciones. Pope et al. (83) mencionan que los blastocistos del día 6 de gestación trasferidos a cerdas receptoras en el día 7, sufren daño morfológico debido a que el embrión porcino no es capaz de adaptarse a un medio ambiente uterino adelantado por 24 horas conforme a su desarrollo morfológico. Morgan et al. (72) señalan que la aplicación de estradiol en los días 11 a 12 de gestación en la cerda primeriza tiene un efecto embriocida sobre los embriones menos desarrollados, sufriendo degeneración y pérdida total alrededor del día 16 de gestación.

Con base en los resultados anteriores, podemos suponer que la baja fertilidad observada en las cerdas tratadas con cipionato de estradiol en el presente estudio puede ser debida a que en algunas cerdas la mayoría de los embriones estaban en estado morfológicamente menos desarrollado al momento del tratamiento resultando la aplicación de los estrógenos contraproducente para su crecimiento e implantación. En apoyo con lo anterior se ha indicado que el

blastocisto morfológicamente inmaduro (esférico) no tiene receptores celulares para reconocer los cambios en la secreción de proteínas reguladoras del desarrollo morfológico liberadas prematuramente en el lúmen uterino de la cerda por acción de los estrógenos exógenos en el día 12 de gestación (71).

por otro lado, De Sea et al. (18), Lee Dalton y Knight (59) mencionan que la aplicación de estrógenos incrementa la actividad secretoria del endometrio siendo ésta necesaria para una mayor sobrevivencia embrionaria en la segunda semana de gestación de la cerda primeriza. Sin embargo estudios recientes (37, 72) señalan que la implantación de la membrana trofoblástica al epitelio uterino varía considerablemente alrededor del día 15 al 18 de gestación de la cerda, siendo ésta etapa cuando es requerida la mayor cantidad de estrógenos ya que es iniciada la formación del DNA necesaria para la síntesis de sustancias importantes para el desarrollo óptimo del embrión. De tal manera que la aplicación de estrógenos en éste período ha dado mejores resultados en el mejoramiento de la tasa de implantación embrionaria. En acuerdo con este concepto, Nauratil et al. (74) señalan un incremento significativo en el número de lechones nacidos por camada del 22 al 28 % al administrar estradiol en los días 16 y 17 de gestación. Resultados

similares indican Schelegel et al. (92) y Pope et al. (84) en cerdas primerizas de granjas comerciales. Además también indican que la administración de estrógenos no afecta el intervalo de destete a servicio o el número de lechones al nacimiento en el subsecuente parto.

Cabe mencionar que la disminución en la fertilidad y un aumento en la tasa de implantación embrionaria observada en la presente investigación, plantea algunas inquietudes que pueden conducir a la dirección de futuros trabajos.

El hecho que obtenga un decremento en la fertilidad a aplicar 1 mg de cipionato de estradiol en los días 12 y 13 de gestación sugiere que el momento de la administración es determinante, ya que en estos días puede existir una desincronización morfológica entre embriones, por lo que podría llevarse a cabo otros trabajos que evalúen el tratamiento en diferentes días como podrían ser entre los días 14 y 16 de gestación.

Por otro lado, el incremento en la sobrevivencia embrionaria y por consiguiente el mejoramiento de la tasa de implantación aunque no significativa, puede ser importante desde el punto de vista biológico y práctico. Basado en un incremento en el tamaño de la muestra, se podría obtener resultados satisfactorios en el número de lechones nacidos por camada en las cerdas primerizas.

Se puede concluir que la administración de 2 mg de cipionato de estradiol causó un ligero aumento en la tasa de sobrevivencia embrionaria a pesar de que el efecto luteoprotector obtenido al utilizar ésta dosis es solamente parcial. Por ésta razón es posible que el efecto fue debido más bien a una acción sobre el medio ambiente uterino que un efecto sobre el cuerpo lúteo. La reducción en la fertilidad de cerdas tratadas puede indicar que las diferencias en el grado de desarrollo embrionario al momento del tratamiento son un obstaculo para la aplicación rutinaria de éste método.

LITERATURA CITADA

1. Anderson, L.D.: Growth, protein content and distribution of early pig embryos. Anat. Rec., 190:143-154 (1978).
2. Anderson, L.D., Schaerf, F.W. and Channing, C.P.: Effects of follicular development on the ability of cultured porcine granulosa cells to convert androgens to estrogens. Med. Biol., 112: 187-195 (1979).
3. Archibong, A.E., England, D.C. and Stormshak, F.: Factors contributing to early embryonic mortality in gilts bred at first estrus. J. Anim. Sci., 64: 474-478 (1987).
4. Bazer, F.W., Chen, T.L., Knight, J.W. and Schlasnagle, D.J.: Presence of a progesterone-induced, uterine specific, acid phosphatase and allantoid fluid of gilts. J. Anim. Sci., 41:1112-1119 (1975).
5. Bazer, F.W. and Thatcher, W.W.: Theory of maternal recognition of pregnancy in swine based on estrogen controlled endocrine versus exocrine secretion of prostaglandin F_{2α} by the uterine endometrium. Prostaglandin., 14:397-401 (1977).
6. Bazer, F.W., Geisert, R.D., Thatcher, W.W. and Roberts, R.M.: The establishment and maintenance of pregnancy. In:Control of pig reproduction. Edited by: Cole, D.J.A. and Foxcroft, G.R.,227-252 Butterworth, London, 1982.
7. Bazer, F.W., Roberts, R.M. and Thatcher, W.W.: Action of hormones on the uterus and effect on conceptus development. J. Anim. Sci., 49:(supl.II) 35-45 (1979).
8. Bazer, F.W., Marengo, S.R., Geisert, R.D. and Thatcher, W.W.: Exocrine versus endocrine of prostaglandin F_{2α} in the control of pregnancy in swine. Anim. Reprod. Sci., 7:115-132 (1984).
9. Bouter, S.R., Bonte, E. and Plassche, M.: Chromosomal abnormalities and embryonic death in pigs. Proc. 1st. World Congr. Genetic Applied Livest. Prod. Nebraska, 1974, 169-171 (1974).
10. Brinkley, K.J. and Young, E.P.: Structural determinants of porcine luteal function. J. Anim. Sci., 31:210 (abstr.) (1970).
11. Broks, C.L., Dukelow, W.R. and Brooks, S.C.: The metabolism and nuclear migration of estrogen in the porcine uterus throughout the implantation process. Biol. Reprod., 20:545-551 (1979).

12. Catt, K.J., Herwood, J.P., Richert, N.D. and Dufau, F.: Luteal desensitization, hormonal regulation of LH receptor, adenylate cyclase and steroidogenic responses in the luteal cell. Med. Biol., 112:647-662 (1979).
13. Channing, C.P.: Follicular non-steroidal regulators. Adv. Exp. Med. Biol., 112:327-347 (1979).
14. Clark, L.K. and Leman, A.D.: Factors that influence litter size in pig. Pig News and Infor., 7: 303-310 (1986).
15. Cole, D.J.A. and Foxcroft, G.R.: Control of pig reproduction. Butterworth, London, 1982.
16. Daniel, W.W.: Bioestadística: Bases para el análisis de las ciencias de la salud. Limusa, México. D.F., 1972.
17. Day, B.N. and Polge, C.: Effect of progesterone on fertilization and egg transport in the pig. J. Reprod. Fert., 17:227-230 (1968).
18. De Sea, W.F., Pleusaran, P., Morcom, C.B. and Dukelon, W.R.: Exogenous steroid effects on litter size and early embryonic survival in swine. Theriogenology., 15:245-255 (1981).
19. Diehl, J.R. and Day, B.N.: Effect of prostaglandin F2 α on luteal function in swine. J. Anim. Sci., 39:392-396 (1974).
20. Doboszynska, T. and Ziecik, A.: Histomorfological comparison on the ovaries in early pregnant and oestradiol-treated pig. Anim. Reprod. Sci., 10:225-235 (1986).
21. Doportó, D.J.M. Planeación y evaluación de empresas porcinas. 2a. ed. Trillas, México, D.F., 1986.
22. Dziuk, P.: The effect of migration, distribution and spacing of pig embryos on pregnancy and fetal survival. Proc. 2nd. Int. Conf. Pig Reprod. Columbia, Mo., 1985, 22, University of Missouri-Columbia, Columbia, Mo., (1985).
23. English, R.P., Smith, J.M. and Maclean, A.: La cerda: como mejorar su productividad. El Manual Moderno, México, D.F., 1981.

24. Fazleabas, A.T., Geisert, R.D., Bazer, F.W. and Roberts, R.M.: Relationship between release of plasminogen activator and estrogen by blastocyst and secretion of plasmin inhibitor by uterine endometrium in the pregnant pig. Biol. Reprod., 29:225-238 (1983).
25. Fenton, F.R., Bazer, F.W., Robinson, and Ulberg, L.C.: Effect of quantity of uterus on uterine capacity in gilts. J. Anim. Sci., 31:104-106 (1972).
26. Fernández, J.P. and Gimeno, M.F.: Catecholamines in sow graafian follicles at proestrus and at diestrus. Biol. Reprod., 34:439-445 (1986).
27. Fisher, H.E., Bazer, F.W. and Fields, M.J.: Steroid metabolism by endometrial and conceptus tissues during early pregnancy and pseudopregnancy in gilts. J. Reprod. Fert., 75:69-78 (1985).
28. Flint, A.P.F., Saunders, P.T.K. and Ziecik, A.J.: Blastocyst endometrium interaction and their significance in embryonic mortality. In: Control of pig reproduction. Edited by: Cole, D.J.A. and Foxcroft G.R., 253-275 Butterworth, London, 1982.
29. Ford, S.P., Christenson, R.K. and Ford, J.J.: Uterine blood flow and uterine arterial, venous and luminal concentrations of oestrogen on day 11, 13 and 15 after oestrus in pregnant and non-pregnant sow. J. Reprod. Fert., 64:185-190 (1982).
30. Ford, S.P., Magness, R.R., Farley, D.B. and Vanerden, D.E.: Local and systemic effects of intrauterine estradiol-17 β on luteal function of non-pregnant sow. J. Anim. Sci., 55:657-664 (1982).
31. Foxcroft, G.R. and Van de Wiel, D.F.W.: Endocrine control of the oestrus cycle. In: Control of pig reproduction. Edited by: Cole, D.J.A. and Foxcroft, G.R., 161-178 Butterworth, London, 1982.
32. Gadsby, J.E., Heap, R.B. and Burton, R.D.: Oestrogen production by blastocyst and early embryonic tissue of various species. J. Reprod. Fert., 60:409-417 (1980).
33. Gardner, M.L., Frist, N.L. and Casido, L.E.: Effect of exogenous estrogens on corpus luteum maintenance in gilts. J. Anim. Sci., 22:646-652 (1963).

34. Geisert, R.D., Renegar, R.H., Roberts, R.M. and Bazer, F.W.: Establishment of pregnancy in the pig: I. Interrelationship between preimplantation development on the pig blastocyst and uterine endometrial secretion. Biol. Reprod., 27:925-939 (1982).
35. Geisert, R.D., Brookbank, J.W., Roberts, R.M. and Bazer, F.W.: Establishment of pregnancy in the pig: II. Cellular remodeling of the porcine blastocyst during elongation on day of pregnancy. Biol. Reprod., 27:941-955 (1982).
36. Geisert, R.D., Biggers, B., Wettmann, R.P. and Zaung, M.T.: Length of pseudopregnancy in the gilts is influenced by day of estradiol benzoate treatment. Proc. 8th. Int. Pig Soc. Ghent, Belgium, 1984 507-508 Int. Pig Vet. Soc. (1984).
37. Geisert, R.D., Zavys, M. T., Wettmann, R.P. and Biggers, B.G.: Length of pseudopregnancy and pattern of uterine protein release as influenced by time and duration of oestrogen administration in the pig. J. Reprod. Fert., 79: 163-172 (1987).
38. Grant, S.A., Alscher, H., Lancaster, R.T. and Foxcroft, G.R.: Follicular dynamics in the cycling gilts. Proc. 2nd. Int. Conf. Pig Reprod. Columbia, Mo., 1985, 42, University of Missouri-Columbia, Columbia, Mo., (1985).
39. Guerra, G.M.X.: Parámetros de producción en el ganado porcino. Revisión bibliográfica. Tesis de licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1980.
40. Guthrie, H.D., Hendricks, D.M. and Handlin, D.L.: Plasma oestrogen, progesterone and luteinizing hormone prior to oestrus and during early pregnancy in pig. Endocrinology., 91:675-679 (1972).
41. Guthrie, H.D., Rexroad, C.E. and Bolt, D.J.: In Vitro release of progesterone and prostaglandin F and E by porcine luteal and endometrial tissues during induced luteolysis. Med. Biol., 112:627-632 (1979).
42. Hafez, E.S.E.: Reproduction in farm animals. 4th. ed. Lea & Febiger. Philadelphia, 1982.
43. Hansel, W., Concannon, D.W. and Lukazewska, J.H.: Corpora lutea of the large domestic. Biol. Reprod., 8:222-245 (1973).

44. Hard, D.L. and Anderson, L.L.: Interaction of maternal blood volume and uterine blood flow with porcine fetal development. Biol. Reprod., 20:79-90 (1982).
45. Heap, R.B., Flint, A.D.F. and Godsby, J.E.: Embryonic signal and maternal recognition in cellular and molecular aspects of implantation. Bulluck, New York, 311-322, 1981.
46. Henricks, D.M., Guthrie, H.D. and Handlin, D.L.: Plasma oestrogen, progesterone and LH levels during the oestrus cycle in pigs. Biol. Reprod., 6:210-218 (1972).
47. Horne, C., Chew, B.F., Wiseman, S.S. and Dziuk, P. J.: Relationships between the level of estrone sulfate in the plasma and the number of fetuses during pregnancy in the pig. Biol. Reprod., 29:56-62 (1983).
48. Hughes, P. E. and Varley, M.: Reproduction in the pig. Butterworth, London, 1980.
49. Hunter, R.H.F.: Reproduction of farm animals. Longman. London & New York. 1980.
50. Hurtgen, J.P., Crabo, B. G. and Leman, A.D.: Fertility examination of boar. Proc. Ann. Meet. Soc. for Theriogenology. St Paul, Minnesota 1977, 11-17. Soc. for study of breeding soundness. Hasting, Nebraska (1977).
51. Johnson, L.A. and Aalbers, J.G.: Artificial insemination of swine. Fertility using several liquid semen diluents. Proc. 8th. Inter. Pig. Vet. Soc. Ghent, Belgium, 1984. 293. Int. Pig Vet. Soc. (1984).
52. Karlbom, I., Einarsson, S. and Edquist, L.: Attainment of puberty in female pigs: Clinical appearance and patterns of progesterone, oestradiol-17 β and LH. Anim. Reprod. Sci., 4:301-312 (1982).
53. Kephart, K.B., Hagen, D.R., Griel, L.C. and Mashaly, M.N.: Relationship between uterine progesterone and fetal development in pigs. Biol. Reprod., 25:349-352 (1981).
54. Keys, J.L. and King, G.J.: Increased uterine vascular permeability at the time of embryonic attachment in the pig. Biol. Reprod., 34:405-411 (1986)

55. Knight, J.W., Bazer, F.W., Thatcher, W.W. and Wallace, H.D.: Conceptus development in intact and unilaterally hysterectomized-ovariectomized gilts. Interrelations between hormonal status placental development, fetal fluids and fetal growth. J. Anim. Sci., 44:620-637 (1977).
56. Koning, I.: Inseminación de la cerda. Acribia, Zaragoza, 1979.
57. Kotwica, J.: Mechanism of prostaglandin F_{2α} penetrations from the horn of the uterus to the ovaries in pigs. J. Reprod. Fert., 59:237-241 (1980).
58. Lasley, E.L.: Ovulation, prenatal mortality and litter size in swine. J. Anim. Sci., 16:335-340 (1957).
59. Lee-Dalton, D. and Knigh, J.W.: Effects of exogenous progesterone and estrone on conceptus development in the swine. J. Anim. Sci., 56:1351-1354 (1983).
60. Leman, A.D., Glack, R.D., Mengeling, W.L., Penny, R.H.C., Scholl, E. and Straw, B.: Diseases of the swine, 5th. ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A., 1981.
61. Magness, R.R., Christenson, R.K. and Ford, S.P.: Ovarian blood flow throughout the estrous cycle and early pregnancy in sow. Biol. Reprod., 28:1090-1096 (1983).
62. Magness, R.R., Reynolds, P. and Ford, S.P.: Evidence for uterine metabolism of progesterone during early pregnancy in the pig. Theriogenology., 25:551-558 (1986)
63. Mahojam, D.K., Murray, F.A. and Little, B.: Concentration of steroid in peripheral, ovarian venous and perifollicular blood and follicular fluid of gilts. Proc. 2nd Int. Conf. Pig Reprod. Columbia, Mo., 1985, 45, University of Missouri-Columbia, Columbia, Mo., (1985).
64. Martinez, G.R., Becerril, A.J., Haro, T.M. y Navarro F.R.: Efecto del ciproionato de estradiol en cerdas gestantes sobre el número de lechones nacidos total, nacidos vivos y fertilidad. XX1 Reunion Nacional, Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos (1986), A.M.V.E.C. Puebla-Tlaxcala. México, 1986.
65. Masuda, H., Anderson, L.L., Hendrick, D.M. and Melampy, R.M.: Progesterone in ovarian venous plasma and corpora lutea of the pig. Endocrinology., 80:240-246 (1967)

66. McDonald, L.E.: Veterinary endocrinology and reproduction. 2nd. ed. Lea & Febiger. Philadelphia, U.S.A., 1975.
67. McGovern, P.T., Morcom, C.B., De Sea, W.F. and Dukelow, W.R.: Chorionic surface area in conceptuses from sows treated with progesterone and oestrogen during early pregnancy. J. Reprod. Fert., 61: 439-442 (1981).
68. Medina, G.J.: Efecto de la monta con cerdos criptorquideos antes del servicio sobre la prolificidad y fertilidad en cerdas. Tesis de licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1986.
69. Moelijono, M.P.E., Bazer, F.W., Thatcher, W.W., Owens, L.J. and Wilcox, C.J.: Characterization and comparison of prostaglandin F_{2α}, estrogen and progesterin concentration in utero-ovarian vein plasma of nonpregnancy gilts. Prostaglandins., 14:543-555 (1977).
70. Morcom, C.B., Wildt, D.E. and Dukelow, W.R.: Progesterone estrone injections during pregnancy in swine for increasing litter size. Proc. 4th. Int. Pig Vet. Soc. Ames, Iowa, 74. 1976 Int. Pig Vet. Soc. (1976).
71. Morgan, G.L., Geisert, R.D., Zavys, M.T., Shawley, R.D. and Fazleabas, A.T.: Development of pig blastocyst in a uterine environment advanced by exogenous oestrogen. J. Reprod. Fert., 80:125-131 (1987).
72. Morgan G.L., Geisert, R.D., Zavys, M.T. and Fazleabas, A.T.: Development and survival of pig blastocyst after oestrogen administration on day 9 on days 9 and 10 of pregnancy. J. Reprod. Sci., 80:133-141 (1987).
73. Musah, A.I., Ford, J.J. and Anderson, L.D.: Progesterone secretion as affected by 17-β estradiol after hysterectomy in the pig. Endocrinology., 115: 1876-1882 (1984).
74. Nauratil, S., Manashoun, M. and Stefan, M.: The effect of exogenous steroids during the first months of pregnancy of sows and gilts on some litters trails. In. Pig News and Infor. 7:(4) (abstr.) (1986).
75. Niemann, H. and Elseasser, J.: Uptake and effects of ovarian steroid in the early pig embryo: In vitro and In vivo studies. Theriogenology., 21:84-102 (1984).

76. Niemann, H. and Elseasser, J.: Accumulation of sex steroids in preimplantation pig blastocyst and their importance for an undisturbed early embryonic development. Pig News and Infor. 7:(3) (abstr.) (1986)
77. Perry, J.S., Heap, R.B. and Amoroso, E.C.: Hormone steroid production for blastocyst of pig. Nature, 245:45-46 (1973).
78. Piper, E.L., Leach, D. and Noland, P.R.: Effects of progesterone administration during implantation on litter size in gilts. J. Anim. Sci., 53:(Suppl. I) 358 (1981).
79. Pond, W.G. and Houpy, K.: Biología del cerdo. Acribia, Zaragoza, 1981.
80. Pope, W.F., Maurer, R.R. and Stormashak, F.: Intrauterine migration of the porcine embryo: Influence of estradiol-17 β and histamina. Biol. Reprod., 27:575-579 (1982).
81. Pope, W.F. and First, N.L.: Factors affecting the survival pig embryos. Theriogenology., 23:91-105 (1985).
82. Pope, W.F., Boyd, R.D., Foote, R.H. and First, N.L.: Dose-response shift in the resistance of maturing porcine blastocyst to exogenous estradiol-17 β . Proc. 2nd Int. Conf. Pig Reprod. Columbia, Mo., 1985, 48, University of Missouri-Columbia, Columbia, Mo., (1985).
83. Pope, W.F., Lawyer, M.S., Nara, B.S. and First, N.L.: Effect of asynchronous superinduction on embryo survival and range of blastocyst development in swine. Biol. Reprod. 35:133-137 (1986).
84. Pope, W.F., Lawyer, M.S. and First, N.L.: The effect of exogenous estradiol on litter size in a typical swine herd. Theriogenology., 28:9-13 (1987).
85. Quintana, F.G., López, J.R., Aragon, A. and Haro, T. M.: Productivity efficiency of females Yorkshires and Landrace crosses for offspring and reproductive traits. Proc. 7th. Int. Pig Soc. . México, D.F., 1982, 321. Inter. Pig Vet. Soc. (1982)
86. Ramírez, A.B., Roa, H.H., Cortes, Z.J. y Navarro, F.R.: Radioinmunoanálisis (RIA) de progesterona en suero de ovinos criollos. Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Acapulco gro. México. (1986), 74, Asoc. Latinamer. Prod. Anim. (1986).

87. Reed, H.C.B.: Artificial Insemination. In: Control of pig reproduction. Edited by: Cole, D.J.A. and Foxcroft, G.R., 65-90 Butterworth, London, 1982.
88. Rillo, S.M.: Reproducción e inseminación artificial porcina. Aedos, España, 1980.
89. Roberson, A.A. and King, G.I.: Plasma concentrations of progesterone, oestrone, oestradiol-17 β and oestrone sulfate in the pig at implantation during pregnancy and at parturition. J. Reprod. Fert., 40:133-141 (1974).
90. Rolland, R., Gunsalus, G.L. and Hammond, J.M.: Demonstration of specific binding of prolactin by porcine corpora lutea. Endocrinology, 98:1083-1091 (1976).
91. Saunders, M.J. and Bazer, F.W.: Comparison of intrauterine and subcutaneous sites of estrogen injection for luteal maintenance in swine. J. Anim. Sci., 57:62-68 (1983).
92. Schlegel, W., Heurich, L. and Heinze, A.: Effect of different doses of progesterone used in early pregnancy and fertility in gilts and sow. Pig News and Infor., 7:(4) (abstr.) (1986).
93. Sheridan, P.J., Austin, F.M., O'Connor, P.J. and Roche, J.F.: Effect of exogenous progesterone and oestrone on litter size in swine. Vet. Rec., 119:322-324 (1986).
94. Shille, W., Karlbom, J.E., Einarsson, S. and Edquist, L.E.: Concentration of progesterone and 15-keto-13, 14-dihydroprostaglandin F₂ α in peripheral plasma during the oestrus cycle and pregnancy in gilts. Zentbl. Vet. Med., 26:169-181 (1979).
95. Spies, H.G., Slytes, A.L. and Quadri, S.K.: Regression of corpora lutea in pregnant gilts administered antiovine LH rabbit serum. J. Anim. Sci., 26:768-771 (1967).
96. Stice, S.L. and Ford, J.J.: Conceptus control of uterine blood flow. Proc. 2nd. Int. Conf. Pig Reprod. Columbia, Mo., 1985, 25, University of Missouri-Columbia, Columbia, Mo., (1985).
97. Stites, D.P., Stobo, J.D., Funderberg, H.H. and Wells, J.V.: Basic & Clinical Immunology. 4th. ed. Lange Medical Publication, California. U.S.A. 1982.

98. Tillson, S.A., Erb, R.E. and Wender, G.D.: Comparison of luteinizing hormone and progesterone in blood and metabolites of progesterone in urine of domestic sows during the estrus cycle and early pregnancy. J. Anim. Sci., 30:795-805 (1970).
99. Ulberg, L.C. and Rampacek, G.B.: Embryonic and fetal development: uterine components and influences. J. Anim. Sci., 38:1013-1017 (1974).
100. Vaillancout, J., Martinesu, G. and Bisailon, A.: Blood sampling techniques in pigs. Fac. Vet. Med. Uni. Montreal. 3:139-145 (1985).
101. Valencia, M.J.: Fisiología de la Reproducción Porcina. Trillas, México, D.F., 1986.
102. Van de Wiel, D.F.M., Erkens, J., Koops, W., Vos, E. and Vanlandeghen, A.A.J.: Perioestrus and mid luteal time courses of circulating LH, FSH, Prolactin, estradiol 17- β and progesterone in the domestic pig. Biol. Reprod., 24:223-233 (1981).
103. Watson, J. and Leask, J.T.S.: Superfusion in vitro in the study of ovarian steroidogenesis. J. Endocr., 64:163-173 (1975).
104. Watson, J. and Walker, M.F.: Progesterone secretion by the corpus luteum of the early pregnant pig during superfusion in vitro with PGF-2 α , LH and oestradiol. J. Reprod. Fert., 52:209-212 (1978).
105. Webel, S.K., Reimers, T.J. and Dziuk, P.J.: The lack of relationship between plasma progesterone levels and number of embryos and their survival in the pig. Biol. Reprod., 13:177-186 (1975).
106. Wildt, D.E., Culvert, A.A., Morcom, C.E. and Dukelow, W.R.: Effect of administration of progesterone and oestrogen on litter size in pig. J. Reprod. Fert., 48:209-211 (1976).
107. Young, K.H., Bazer, F.W., Simpkins, J.W. and Roberts, R.M.: Effects of early pregnancy and acute 17- β estradiol administration on porcine uterine secretion, cyclic nucleotides, and catecholamines. Endocrinology., 120:252-263 (1987).

108. Ziecik, A., Shaw, H.J. and Flint, A.P.F.: Luteal LH receptors during the oestrus cycle and early pregnancy in the pig. J. Reprod. Fert., 60:129-137 (1980).
109. Ziecik, A., Doboszynska, T. and Dusza, L.: Concentrations of LH, Prolactin and progesterone in early pregnancy and oestradiol-treated pig. Anim. Reprod. Sci., 10:215-224 (1986)