

01672



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

9

EFFECTO DE UNA DOSIS DE 500 mg DE SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (rbST) EN LA FERTILIDAD DE VACAS HOLSTEIN AL PRIMER SERVICIO Y REPETIDORAS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTADA POR

MVZ GABRIEL MENDOZA MEDEL

230402

TUTOR PRINCIPAL: DCV JOEL HERNANDEZ CERON

COMITE TUTORAL:

PhD. EVERARDO GONZALEZ PADILLA

PhD. ALEJANDRO VILLA GODOY



MEXICO, D. F.

2000



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.

Esta tesis esta dedicada con cariño y respeto a mis padres

Gabriel Mendoza Martínez y

Nina Medel Herrera; con mucho amor

a mi esposa Magdalena Domínguez Acosta y
para mis hermanos Oscar Manuel y Alejandro,
quienes han sido parte fundamental de mi vida.

A todos los estudiantes que pasan por momentos difíciles para
poder alcanzar un peldaño más en la vida.

DECLARACIÓN

El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que esta tesis esté disponible para cualquier tipo de intercambio bibliotecario.

MVZ GABRIEL MENDOZA MEDEL.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Joel Hernández Cerón y al Dr. Carlos Gutiérrez Aguilar por su ayuda incondicional en la elaboración de este trabajo.

Al Comité Tutorial Dr. Joel Hernández Cerón, Dr. Everardo González Padilla, Dr. Alejandro Villa Godoy, Dr. Carlos García Bojalil y al Dr. Javier Valencia Méndez por su valiosa contribución a mi formación.

Al MVZ Marco A. Oropeza por su colaboración en el arduo trabajo de campo; así como al M. C. Gustavo Rodríguez Trejo y al Dr. Salvador Morales Roura por su amistad.

A los ganaderos del Complejo Agroindustrial de Tizayuca Hidalgo, por permitirme realizar el trabajo experimental en sus establos lecheros.

Al laboratorio de endocrinología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM por la realización de las pruebas de radioinmunoanálisis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por otorgarme la beca durante mis estudios de posgrado.

A todos mis amigos de siempre.

INDICE	PAGINA
RESUMEN	V
SUMMARY	VI
INDICE DE CUADROS Y FIGURAS	VII
CAPITULO 1	
INTRODUCCION	1
CAPITULO 2	
REVISION DE LITERATURA	
2.1 INFERTILIDAD EN EL GANADO LECHERO	4
2.1.1 Etiología de la mortalidad embrionaria	4
2.1.2 Alteraciones genéticas	5
2.1.3 Factores nutricionales	6
2.1.4 Alteraciones endocrinas	8
2.1.5 Ambiente oviductal y uterino	8
2.1.6 Agentes infecciosos	10
2.1.7 Causas ambientales	12
2.1.8 Alternativas utilizadas para mejorar la fertilidad	13
2.2 EFECTOS DE LA SOMATOTROPINA SOBRE LA REPRODUCCION BOVINA	14
2.2.1 La somatotropina y la foliculogénesis	15
2.2.2 La somatotropina y el cuerpo lúteo	21
2.2.3 La somatotropina y el desarrollo embrionario	23
CAPITULO 3	
MATERIAL Y METODOS	27
CAPITULO 4	
RESULTADOS	31
CAPITULO 5	
DISCUSION	34
CAPITULO 6	
LITERATURA CITADA	41

RESUMEN

MENDOZA MEDEL GABRIEL. Efecto de una dosis de 500 mg de somatotropina bovina recombinante (rbST) en la fertilidad de vacas Holstein al primer servicio y repetidoras (bajo la dirección del Dr. Joel Hernández Cerón).

La fertilidad en el ganado lechero ha disminuído en los últimos años. La causa de esta condición esta asociada al incremento simultaneo en los niveles de producción láctea. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la administración de una sola dosis de somatotropina bovina recombinante (rbST) al momento de la inseminación artificial en el porcentaje de concepción de vacas Holstein al primer servicio y repetidoras. Para tal fin, fueron utilizados 362 animales al primer servicio (81.8 ± 3.5 días posparto y 2.7 ± 0.7 partos) y 316 vacas repetidoras (245 ± 3.7 días posparto, 5.05 ± 0.05 servicios y 3.0 ± 0.07 partos). Al momento de la inseminación artificial, 195 vacas al primer servicio y 175 vacas repetidoras recibieron una sola dosis de 500 mg de rbST. Mientras que 167 animales al primer servicio y 141 repetidoras constituyeron el grupo testigo sin recibir tratamiento alguno. El diagnóstico de gestación se realizó por palpación rectal a los 45 días después del tratamiento. El porcentaje de gestación se comparó mediante modelos lineales mixtos incluyendo al hato como variable aleatoria. Al comparar los resultados entre los animales tratados y testigos (primer servicio y repetidoras) se encontró que el porcentaje de concepción fue mayor en las vacas que recibieron rbST (42.7%; 158/370) que en las vacas testigo (34.8%; 107/308) ($P < 0.05$). En el grupo de vacas al primer servicio no se encontró diferencia ($P > 0.05$) en el porcentaje de concepción de las vacas tratadas (39%; 77/195) y testigo (35%; 58/167). Las vacas repetidoras tratadas con rbST tuvieron un porcentaje de concepción significativamente mayor ($P < 0.05$) (46%; 81/175) que las testigo (35%; 49/141). Respecto a las concentraciones de progesterona no se encontró diferencia entre el grupo tratado y testigo. Se concluye que el tratamiento con una sola aplicación de 500 mg de rbST al momento de la inseminación mejoró el porcentaje de concepción en vacas repetidoras.

Palabras claves: somatotropina bovina, fertilidad, progesterona.

SUMMARY

Mendoza Medel Gabriel. Effect of a single dose of 500 mg recombinant bovine somatotrophin (rbST) on fertility in first service and repeat-breeder Holstein cows. (directed by Dr. Joel Hernandez Cerón).

Dairy cattle fertility has suffered a steady decrease over the past 40 years which is associated with a simultaneous increase in milk production. Recombinant Bovine Somatotrophin (rbST) is routinely used to enhance milk production and has also been shown to have effects on follicular development and number of transferable embryos after superovulatory treatments. The objective of this study was to evaluate the effect of a single dose of rbST given at the time of artificial insemination (AI) on pregnancy rates in dairy cattle. A total of 362 first service cows (81.5 ± 3.5 day postpartum (dpp), and 2.7 ± 0.7 calvings(c)), and 316 repeat-breeder cows (245 ± 3.7 dpp, 5 ± 0.05 inseminations, and 3 ± 0.07 c) located in 17 Holstein herds were used. At the time of AI, 195 first service cows and 175 repeat breeders received 500 mg of rbST, whereas the control cows were 167 and 141 cows for first service and repeat breeders, respectively. Pregnancy rates were compared by generalised linear mixed models after logit transformation of the response variable, including the herds as a random effect. Overall, treatment with rbST improved pregnancy rate (rbST=42.7%, control=35%; $P < 0.05$). When data was analyzed per cattle group, rbST improved fertility in repeat breeders (rbST=46%, control 35%; $P < 0.05$), but not in first service cows (rbST= 39%, control =35%; $P > 0.05$). In conclusion, a dose of 500 mg of rbST at the time of AI significantly improves pregnancy rates in repeat breeder cows.

Key words: Bovine somatotropin, fertility, progesterone.

INDICE DE CUADROS

PAGINA

- | | |
|--|----|
| 1. Porcentaje de concepción por grupo tratado y testigo en vacas de primer servicio y repetidoras. | 31 |
| 2. Porcentaje de concepción en vacas de primer servicio y repetidoras tratadas con rbST en el momento de la inseminación artificial. | 32 |
| 3. Comparación de variables incluidas en el estudio de acuerdo al resultado de la inseminación artificial. | 32 |

INDICE DE FIGURAS

- | | |
|--|----|
| 1. Concentraciones de progesterona plasmática durante los primeros 10 días del ciclo estral en vacas de primer servicio (1er.) o repetidoras (Rep.) que recibieron (rbST) o sin tratamiento (Test.). | 33 |
|--|----|

CAPITULO 1

INTRODUCCION

En los hatos lecheros la baja fertilidad continúa siendo uno de los principales problemas con los que se enfrenta el Médico Veterinario, y se ven reflejados en un mayor intervalo entre partos, días abiertos, servicios por concepción y eliminación de animales por fracaso en la concepción (Bascom y Young, 1998).

La tasa de concepción de las vacas lecheras ha venido disminuyendo conforme ha aumentado la producción de leche (Britt, 1997; Macmillan et al., 1996). Así, de un 66% de concepción en 1951, actualmente se logra gestar el 40% de los animales servidos, mientras que en el mismo periodo de tiempo se ha incrementado la producción de leche en un 218%. En contraste, la tasa de concepción en becerras continúa siendo de 70-80% demostrando que no existe un efecto directo de la selección genética en la fertilidad, sino de manera indirecta por seleccionar animales con un sistema metabólico dirigido a la producción de leche (Beam y Butler, 1999; Butler, 1998).

Debido a esto, durante los últimos años se ha tenido que recurrir a nuevas herramientas que nos ayuden a mejorar la fertilidad. Se han utilizado tratamientos que pretenden alargar la vida media del cuerpo lúteo y permitir el reconocimiento materno de la gestación (Thatcher et al., 1994), pero sus resultados han sido muy variables. De estos tratamientos está el uso de GnRH (factor liberador de gonadotropinas) (Bondurant et al., 1991; Ryan et al., 1991) o la aplicación de hCG (gonadotropina coriónica humana) (Swanson y Young, 1990) y el uso de progestágenos durante los primeros días postservicio (Van Cleff et al., 1991).

Recientemente se ha demostrado que la somatotropina bovina recombinante (rbST), además de aumentar la producción láctea 10-15% (Bauman, 1992; Burton et al., 1994; Etherton y Bauman, 1998; Cole, 1991), puede tener un efecto importante en los procesos reproductivos, como en la foliculogénesis (Kirby et al., 1997), formación del cuerpo lúteo (CL) (Lucy et al., 1994a) y desarrollo embrionario (Bevers et al., 1997; Lucy et al., 1999) de manera directa o mediante el factor de crecimiento parecido a la insulina tipo 1 (IGF-I) (Cole y Lucy, 1997).

Algunos estudios (Gallo y Block, 1991; Lucy et al., 1995; Schemm et al., 1990) mencionan que las vacas tratadas con rbST tienen mayores concentraciones de progesterona circulante y CL's más grandes. Otro efecto muy importante que produce la rbST es un aumento en el número de folículos pequeños (3-5 mm) en vaquillas (Gong et al., 1991) y en vacas en el número de folículos medianos (6-9 mm) (De La Sota et al., 1993). Posteriormente se demostró que la segunda onda folicular del ciclo estral se desarrolló 48 horas más temprano en las vaquillas tratadas con rbST (Lucy et al., 1994b).

El ARNm para el receptor de somatotropina también se ha encontrado en el CL (Lucy et al., 1993). Entonces, la rbST podría tener efectos en el ovario mediante la interacción con su propio receptor en el CL, aunque la mayor población de receptores para somatotropina estén en el hígado del animal (Lucy et al., 1998). En respuesta a rbST, el hígado produce IGF-I el cual sirve como su principal mediador (Bauman, 1992). Este aumento de IGF-I puede tener efectos estimulantes en el ovario porque los receptores de IGF-I se han identificado tanto en los folículos como en células lúteas

(Armstrong et al., 2000; Spicer y Echternkamp, 1995). *In vitro*, el IGF-I incrementa la secreción de progesterona por el CL (Sauerwein et al., 1992) y estimula la función de las células de la granulosa de varias especies (Spicer et al., 1993).

También se ha demostrado la presencia de IGF-I tanto en el líquido oviductal (Makarevich y Sirotkin, 1997) como uterino (Wathes et al., 1998a) así como de receptores para IGF-I en el embrión bovino (Watson et al., 1992). Algunos investigadores han establecido el efecto benéfico de la adición de IGF-I solo o junto con otros factores de crecimiento en el desarrollo de embriones bovinos producidos *in vitro* (Matsui et al., 1997; Rieger et al., 1998).

En un estudio realizado por Morales (1993) donde evaluó la administración de rbST en el índice de concepción en vacas repetidoras, aplicando el tratamiento el día del estro y 10 días después, observó un mayor índice de concepción en el grupo tratado (36%) comparado con el grupo testigo (26%). El mismo autor encontró en otro estudio (Morales, 2000), que la aplicación de rbST al inicio del estro incrementó la proporción de embriones transferibles en vacas repetidoras (84.4% en el grupo tratado y 54.5% en el grupo testigo). Estos resultados demuestran un efecto significativo de la rbST en el incremento de la fertilidad en vacas repetidoras. Sin embargo, la baja fertilidad en los hatos lecheros no se circunscribe a las vacas repetidoras, ya que las vacas de primer servicio también tienen un porcentaje de concepción similar (Morales et al., en prensa). Por tal motivo, el presente trabajo evaluó el efecto de una sola dosis de rbST al momento de la inseminación artificial en la fertilidad (índice de concepción) tanto en vacas al primer servicio, como en vacas repetidoras.

CAPITULO 2

REVISION DE LITERATURA

2.1 INFERTILIDAD EN EL GANADO LECHERO.

La infertilidad en el ganado lechero ha sido uno de los principales problemas en la rentabilidad de la industria lechera. La mortalidad embrionaria se ha identificado como una de las causas más importante en la baja eficiencia reproductiva en el ganado bovino, ocurriendo su mayor parte dentro de los primeros 16 días, por lo cual no se detecta una alteración en la duración del intervalo entre estros (Diskin y Sreenan, 1980). Se ha comprobado un retraso en el desarrollo y degeneración de los embriones en los primeros 7 días post fertilización, apreciándose este fenómeno con menos ocurrencia en vaquillas vírgenes pero siendo frecuente en vacas y vaquillas repetidoras (Linares, 1982; Gustafsson, 1985). Dichos embriones no podrán establecer el mecanismo de reconocimiento materno de la gestación, mediante la secreción de interferón τ (Thatcher et al., 1997), la cual está directamente relacionada con el tamaño del embrión (Thatcher et al., 1994). Así, embriones menores de 25 mm en el día 15-17 no producen la cantidad suficiente de interferón τ para el reconocimiento materno (Geisert et al., 1988).

2.1.1 Etiología de la mortalidad embrionaria.

El desarrollo y la sobrevivencia exitosa del embrión dependen de una secuencia integrada de eventos biológicos que involucra al ovario, embrión, oviducto y útero. Esta cadena de eventos inicia con el crecimiento de un folículo preovulatorio, continuando con la maduración del ovocito, precedido por el pico preovulatorio de LH, luteinización

del tejido folicular previo y después de la ovulación, y la subsecuente fertilización del ovocito en el oviducto. El proceso continúa con el desarrollo del cigoto en el ambiente oviductal, hasta el estado de blastocito, seguido por su transporte al útero. Los ovarios inducen cambios en el aparato reproductor, que contribuyen a la elongación subsecuente de las membranas extraembrionarias y activación de mecanismos dentro del endometrio que resulta en mantenimiento del CL para sostener la gestación. Esta secuencia de eventos permite la viabilidad embrionaria, que involucra un diálogo cerrado entre el embrión y el ambiente materno (ovario-oviducto-útero). Esta es una interacción de dos medios bajo el control de varios factores endocrinos, paracrinicos y autocrinos. Una perturbación en el sistema puede permitir una reducida sobrevivencia embrionaria (Thatcher et al., 1994)

Respecto a la etiología de la mortalidad embrionaria temprana, se podrían considerar de mayor importancia a los factores genéticos, nutricionales, endocrinos, infecciosos y ambientales (Zavy, 1994).

2.1.2 Alteraciones genéticas.

Las anomalías cromosómicas han sido identificadas como causa de mortalidad embrionaria temprana; en general, se considera que la mortalidad embrionaria temprana es parte del sistema biológico para poder eliminar errores citogenéticos a un bajo costo biológico (Zavy, 1994). La translocación Robertsoniana 1/29 produce una menor fertilidad en el ganado bovino (Schmutz et al., 1997), así como la deficiencia de la enzima uridina-5-monofosfato sintetasa, la cual está

involucrada en la síntesis de nucleótidos de pirimidina necesarios para la síntesis de las moléculas de ADN y ARN. Los embriones homocigóticos recesivos para este desorden mueren antes del día 40 de la gestación (Shanks y Robinson, 1989). La mortalidad embrionaria en la inseminación tardía, aunque es un problema de manejo, tiene sus bases en la genética del ovocito, el cual envejece rápidamente sufriendo procesos degenerativos; cabe mencionar que la vida del ovocito es de sólo 8 a 10 horas. En este caso, la fertilización se produce pero puede fallar el bloqueo de la poliespermia o el embrión se desarrolla anormalmente muriendo en los siguientes días (Zavy, 1994).

2.1.3 Factores nutricionales.

Respecto a los factores nutricionales, se ha señalado que el exceso de proteína degradable ruminal de la dieta, produce una elevada concentración de nitrógeno uréico circulante y puede repercutir en una reducida tasa de concepción (Butler, 1998). Se menciona que los niveles elevados de amoniaco y urea en sangre pueden provocar niveles similares en tejidos y fluidos uterinos, los cuales podrían ser tóxicos para el óvulo, espermatozoide o embrión, o bien puede afectar a las células ciliadas provocando un deficiente transporte del cigoto (Carroll, 1988). A su vez, se ha determinado que el nitrógeno uréico provoca una disminución del pH uterino, reflejándose en una mayor mortalidad embrionaria en vaquillas (Elrod y Butler, 1993), además puede alterar las concentraciones de iones (Mg, K, P y Zn) y de proteínas en el aparato reproductor de la madre (Jordan et al., 1983).

Se ha demostrado que cuando el nitrógeno uréico en suero excede de 20 mg/dl, la fertilidad en el ganado lechero se afecta severamente (Ferguson et al., 1991). En otro estudio se reportó que las vacas que se alimentaban con 20% de proteína cruda, presentaban una concentración de nitrógeno uréico de 16.8 mg/dl y una tasa de concepción menor comparada con vacas que se alimentaban con 15% de proteína cruda y contenían 9 mg/dl de nitrógeno uréico circulante (Kaim et al., 1983). Mientras que García-Bojalil et al. (1994) demostró en vacas no lactantes superovuladas que la administración de dietas con altas cantidades de proteína cruda (27%), no alteró el crecimiento del folículo dominante, ni la cantidad y calidad de embriones transferibles. Sin embargo, al utilizar vacas no lactantes, el efecto de grandes cantidades de proteína cruda en la respuesta superovulatoria fue aislado de otros factores que intervienen en vacas lactantes como la producción de leche, balance energético negativo, cambios en el consumo de materia seca y problemas de salud asociados.

Otro factor putativamente importante para la viabilidad embrionaria es el balance energético de las vacas. Es bien conocido que la tasa de concepción es mayor en vacas que están ganando peso durante el periodo de cruzamiento que aquellas que lo pierden (Plym et al., 1991). La tasa de concepción a primer servicio se reduce en aquellas vacas con niveles de glucosa sanguínea bajos (< 30 mg/dl) (McClure, 1970). Esto sugiere que las bajas tasas de concepción en vacas subalimentadas pueden ser resultado de un ambiente hormonal inapropiado, especialmente en relación con los niveles de progesterona, ya que también se ha demostrado que las vacas con un

balance energético negativo, tienden a tener niveles más bajos de progesterona (Villa-Godoy, 1988).

2.1.4 Alteraciones endocrinas.

Respecto a los factores endocrinos que están involucrados con la mortalidad embrionaria, podemos considerar a la inadecuada función del CL. Tal insuficiencia lútea puede deberse a la presencia de un CL de vida corta (7 a 12 días) (Hernández, 1997) o bien a un CL con una vida media normal pero con una producción disminuída de progesterona (Inskeep, 1995). En algunos estudios, se han encontrado diferencias al comparar los niveles de progesterona durante la fase lútea temprana o media en vacas inseminadas que logran gestarse, contra las que fallan en concebir o que pierden su embrión (Lamming et al., 1989). Sin embargo, otros trabajos son incapaces de demostrar una relación definitiva entre los niveles de progesterona y las tasas de concepción durante los 16 días siguientes a la inseminación (Sreenan y Diskin, 1983; Hasler et al., 1980). Posiblemente un nivel elevado de progesterona pudiera ser el reflejo de una señal luteotrópica por el embrión, mientras que la depresión de la misma pudiera representar un ambiente uterino poco adecuado (Kerbler et al., 1997).

2.1.5 Ambiente oviductal y uterino.

Sabemos que el ambiente uterino y oviductal tienen gran importancia en la viabilidad y desarrollo embrionario (Gandolfi, 1994). Existen estudios que señalan que la incidencia de embriones anormales 7 días después de la inseminación es mayor en

vaquillas repetidoras (72%) que en vaquillas normales (22%) (Linares, 1982). Los embriones de vaquillas repetidoras presentan retraso en su desarrollo comparado con los de las normales. Se sugiere que este retraso podría deberse a que las condiciones del medio ambiente del oviducto y útero no son las apropiadas para el correcto desarrollo del embrión. En un intento por responder esta pregunta, se colectaron embriones de vacas normales y vacas repetidoras 6 días después del servicio; los embriones normales de ambos grupos fueron transferidos a vaquillas vírgenes (consideradas con un mejor ambiente uterino) o a vaquillas repetidoras (con condiciones uterinas de menor calidad). Las vírgenes lograron un porcentaje de gestación del 38.5% contra 10.3% de las vaquillas repetidoras, lo que indica que el medio ambiente uterino de la hembra receptora fue responsable del grado de sobrevivencia embrionaria, independientemente del tipo de donadora (Gustafsson y Larson, 1985).

Se han identificado una gran variedad de proteínas secretadas por el oviducto, las cuales estimulan una actividad mitótica similar a la del suero fetal bovino *in vitro* (Gandolfi et al., 1989). Pero aún es necesario determinar el papel fisiológico de tales proteínas; sin embargo, es claro que la modificación de producción o secreción puede tener efectos adversos en el desarrollo embrionario. Es posible que la secreción de estas proteínas por el epitelio del oviducto estén bajo el control de hormonas ováricas, y en consecuencia cualquier desbalance hormonal alteraría su secreción, resultando un pobre desarrollo embrionario temprano (especialmente en la etapa de 8 a 16 células) (Ellington, 1991).

Los estudios sobre transferencia embrionaria han aportado suficiente evidencia acerca de la importancia que tiene la sincronía entre el grado de desarrollo del embrión y el correspondiente estado del útero de la hembra receptora. De esta manera se ha establecido que la tasa de gestación es aproximadamente del 91% cuando existe una exacta sincronía entre los embriones y las hembras receptoras y la misma declina a un 57% cuando existe entre ambos una sincronía de ± 1 día (Rowson et al., 1972). Además, se observa que los embriones recuperados en el día 15 muestran una morfología normal si la transferencia fue sincrónica, mientras que los embriones transferidos asincrónicamente (± 3 días) presentan retraso en su desarrollo y cambios degenerativos, siendo posible que estos embriones sean incapaces de inhibir la luteolisis, lo que provocaría su muerte (Albihn et al., 1991).

2.1.6 Agentes infecciosos.

En el pasado la mortalidad embrionaria se relacionaba estrechamente con las infecciones uterinas. En la actualidad, debe distinguirse el papel de las infecciones uterinas específicas o inespecíficas como causa de mortalidad embrionaria. Es común que las infecciones del útero ocurran durante el período posparto y gradualmente la infección sea eliminada del útero; así, para el tiempo del primer estro posparto la infección ha sido controlada. Incluso se ha observado que la tasa de infección uterina en vacas repetidoras es virtualmente la misma que en la población de vacas fértiles. Estas observaciones apoyan la idea de que las infecciones uterinas inespecíficas del útero no son incompatibles con la función reproductiva normal. Por lo tanto, las

infecciones inespecíficas no son el principal factor de mortalidad embrionaria. Sin embargo, en tales circunstancias es posible que microorganismos puedan sobrepasar los mecanismos de defensa uterina y causar infecciones uterinas específicas, las cuales son suficientemente severas para causar mortalidad embrionaria. Al respecto, existe una amplia variedad de agentes infecciosos capaces de provocar muerte embrionaria, la cual incluye diversas bacterias, virus, protozoarios y hongos (Zavy, 1994).

Entre las principales causas bacterianas de mortalidad embrionaria se encuentran el *Actinomyces pyogenes* (Semambo et al., 1991), el *Campylobacter fetus* y el *Ureaplasma diversum* (Ruhnke et al., 1989), los cuales más que afectar directamente al embrión, provocan una infección en el aparato reproductor y lo hacen menos propicio para el correcto desarrollo embrionario. El *Haemophilus somnus*, en cambio, ha probado tener un efecto directo sobre el embrión (Kaneene et al., 1986), mientras que *Leptospira interrogans* (serovariedad *hardjo* y *pomona*), es causante de infertilidad y puede permanecer en oviducto por más de tres meses (Ellis y Thiermann, 1986), por lo que ha sido implicada en la mortalidad embrionaria.

Los principales virus causantes de mortalidad embrionaria son el *Herpevirus bovino-1* (Bowen et al., 1985), el cual tiene un efecto directo sobre el embrión y el virus de diarrea viral bovina que provoca una endometritis y por consiguiente un ambiente uterino desfavorable para el embrión (Donis et al., 1988).

El principal protozoario implicado en la mortalidad embrionaria lo constituye el *Trichomonas foetus*, el cual está asociado a una infección purulenta del aparato

reproductivo (Skirrow y Bondurant, 1990), mientras que *Candida tropicalis* y *Acremonium kiliense* son dos hongos a los cuales se ha atribuido un efecto negativo sobre el embrión (Corbel, 1988).

2.1.7 Causas ambientales.

Dentro de las causas ambientales, la alta temperatura es especialmente dañina cuando se combina con una humedad elevada, resultando en bajos porcentajes de concepción y altas tasas de mortalidad embrionaria. Durante el periodo de servicio, el estrés calórico afecta el desarrollo del embrión al elevarse la temperatura uterina, o indirectamente al alterarse el medio ambiente uterino mediante modificaciones del estado endocrino materno (Badinga et al., 1985).

El embrión bovino es extremadamente sensible en sus fases tempranas de desarrollo al estrés térmico. Se ha observado que el ganado bovino lechero sometido a elevadas temperaturas tiene un menor porcentaje de embriones normales (20.7%) al 7° día postservicio, que cuando se mantiene a 20°C (51.5%) (Zavy, 1994). En general, las vaquillas sometidas a condiciones hipertérmicas muestran una mayor incidencia de embriones anormales con blastómeros degenerados y no viables (Putney et al., 1988a). Para remover el efecto materno se han estudiado embriones *in vitro* a altas temperaturas, observándose que el estrés calórico produce en el embrión una disminución en su síntesis proteínica (Putney et al., 1988b).

2.1.8 Alternativas utilizadas para mejorar la fertilidad.

Con la finalidad, de mejorar la fertilidad se ha recurrido a una serie de tratamientos hormonales. Entre los más conocidos en la práctica veterinaria podemos encontrar la utilización del GnRH (factor liberador de gonadotropinas), el cual se inyecta en el momento de la inseminación para elevar el índice de concepción en vacas repetidoras (Bondurant et al., 1991). En algunos estudios se ha demostrado cierto incremento en la fertilidad; sin embargo, existe igual número de trabajos en los cuales no se observa mejoramiento. Otra hormona que se utiliza frecuentemente es la hCG (gonadotropina coriónica humana) con la intención de ayudar a la formación y mantenimiento del CL, pero sus resultados hasta la fecha han sido muy cuestionados (Swanson y Young, 1990).

La suplementación con progesterona se ha utilizado intensivamente para complementar la función lútea (vacas subfértiles), mediante la administración de un dispositivo intravaginal por 7 días iniciando el día 5 del ciclo. Sin embargo los resultados son variables, por un lado existe información en la cual se ha obtenido una mejor fertilidad en vacas en lactación (Macmillan et al., 1991), en tanto que otros estudios no se reporta ningún incremento (Van Cleff et al., 1991).

Por otro lado, la somatotropina se ha utilizado frecuentemente en las explotaciones lecheras lograndose aumentar la producción láctea en un 10-15% (Etherton y Bauman 1998). Sin embargo, en los últimos años se ha demostrado que esta hormona participa en algunos procesos reproductivos que pueden ayudar a mejorar la fertilidad en las vacas lecheras (Cole y Lucy, 1997). Morales (1993) aplicó la

rbST a vacas repetidoras en el inicio del estro y 10 días post-servicio observando un mejor índice de concepción en los animales tratados (26% vs 36%).

2.2 EFECTOS DE LA SOMATOTROPINA SOBRE LA REPRODUCCION BOVINA.

La somatotropina es una hormona proteínica producida por los somatotropos en la glándula pituitaria anterior (Burton et al. 1994). Muchos de los efectos metabólicos y somatogénicos de la somatotropina se llevan a cabo de manera directa, pero otros los realiza de manera indirecta a través de los IGF's, los cuales son producidos principalmente en el hígado por la estimulación de la somatotropina (Wallis, 1988).

Los factores de crecimiento son proteínas de peso molecular menor a 30000 daltons, los cuales pueden servir como hormonas circulantes y/o como factores paracrinós o autocrinós que actúan localmente en diferentes tejidos (Monget y Monniaux, 1995).

Se ha sugerido que diversos factores de crecimiento tienen un potencial regulador de la función ovárica en los mamíferos (Spicer y Echterkamp, 1995). Hay evidencias de que al menos cuatro familias de factores de crecimiento tienen esta posible función (Spicer et al., 1994; Spicer y Echterkamp, 1995): Los factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGF-I/IGF-II), el factor de crecimiento epidermal y de transformación con actividad alfa (EGF/TGF- α), los factores de crecimiento de los fibroblastos, ácidos y básicos (aFGF/bFGF) y la superfamilia de factores de crecimiento de transformación con actividad alfa y beta (TGF α - β) (Hill, 1989).

Los IGF-I e IGF-II son polipéptidos con peso molecular de alrededor de 7500 daltons, el IGF-I tiene 70 aminoácidos y 67 el IGF-II, teniendo similitud funcional y estructural con la insulina. El IGF-I es un importante mediador del crecimiento que se produce en respuesta a la hormona somatotropina, mientras que el IGF-II es menos dependiente de somatotropina (Hill, 1989). Sus funciones generales incluyen estimulación rápida del transporte de aminoácidos, consumo de glucosa, utilización y síntesis de ácido ribonucleico, proteínas y en algunos casos síntesis de ácido desoxiribonucleico y replicación celular (Hill, 1989).

El IGF-I tiene la habilidad de estimular la proliferación celular en diversos tejidos, además potencializa marcadamente la actividad de otros factores de crecimiento con mayor capacidad mitogénica, como el EGF, aFGF y bFGF (Simmen et al., 1993). Por otra parte, al interactuar con gonadotropinas el IGF-I estimula la diferenciación celular y la esteroidogénesis (Hammond et al., 1991; Gutiérrez et al., 1997), así como en el proceso de selección y maduración del folículo dominante que depende de una interacción de FSH, LH y factores de crecimiento (Webb et al., 1999; Yuan et al., 1998).

2.2.1 La Somatotropina y la foliculogénesis.

La foliculogénesis en la vaca es controlada por un mecanismo complejo local y sistémico, con el cual asegura que solo el 0.1% de los folículos sobreviva de la atresia y llegue a ser ovulatorio. Entre los principales reguladores del crecimiento folicular podemos encontrar a las gonadotropinas (LH y FSH), factores de crecimiento (IGF-I),

somatotropina e insulina entre otros (Webb et al., 1994; Yuan et al., 1998; De La Sota et al., 1996).

El desarrollo folicular es un proceso largo que toma cerca de 180 días desde que un folículo es primordial (100 μm) hasta que llega al estado de folículo ovulatorio (15 mm) (Cahill y Mauleon, 1981). Cuarenta días antes de que un folículo alcance el tamaño ovulatorio se da la formación del antro, para lo cual el folículo ya tiene un diámetro de 0.2 a 0.4 mm. (Monniaux et al., 1997). El desarrollo folicular antral incluye dos fases. En la primer fase, los folículos crecen lentamente y la tasa de crecimiento folicular esta relacionada a la proliferación de células de la granulosa. Esta fase no es dependiente de gonadotropinas, pero se menciona que otras hormonas como somatotropina, IGF-I e insulina pueden estar involucradas en esta etapa. Durante la segunda fase el crecimiento folicular es rápido debido al agrandamiento del antro. El desarrollo folicular terminal es caracterizado por un importante aumento en la capacidad esteroidogénica, por lo tanto, esta fase es estrictamente dependiente de gonadotropinas (LH y FSH) (Monniaux et al., 1997; Webb et al., 1999).

Durante el ciclo estral de la vaca se presentan entre dos y tres ondas foliculares; cada oleada folicular comienza cuando un grupo de folículos antrales (> 4 mm de diámetro) son estimulados a continuar su desarrollo, proceso conocido como reclutamiento (Webb et al., 1999). Posteriormente se realiza la selección, durante la cual unos folículos continúan creciendo (folículos dominantes), mientras que el resto de la población se les llama subordinados y sufren atresia (Lucy et al., 1992); el folículo seleccionado se convierte en dominante mediante la inhibición directa o indirecta de la

diferenciación y crecimiento de sus compañeros. Si el folículo dominante no llega a ovular después de cierto tiempo de ejercer dominancia, sufre atresia y se inicia una nueva oleada del desarrollo folicular (Adams, 1999). El folículo que es dominante, en el momento que ocurre la regresión natural del CL, llegará a convertirse en el folículo ovulatorio (Campbell et al., 1995).

Monget y Monniaux (1995) reportaron que existen evidencias de que los factores de crecimiento modulan la foliculogénesis; éstas pequeñas proteínas están directamente involucradas en la proliferación y diferenciación celular, mediante un complejo sistema que incluye todos los factores estructurales y funcionalmente relacionados, sus receptores y sus proteínas de enlace. Los IGF's son estimuladores del crecimiento folicular, de la proliferación y diferenciación celular, al mismo tiempo amplifican la acción de las gonadotropinas sobre las células foliculares (Gutiérrez et al., 1997). En las células de la granulosa aumenta la sensibilidad a FSH, respuesta que probablemente resulta del sistema intrafolicular de amplificación, que involucra al estradiol e IGF-I; entonces ambos potencializan la acción de FSH sobre las células de la granulosa (Monniaux et al., 1997). Además, el folículo que ha alcanzado un cierto grado de desarrollo requiere principalmente de LH para seguir creciendo (Gong et al., 1995). Esta estimulación del folículo dominante por parte de la LH es facilitada por el aumento de la síntesis de receptores para LH que se produce en respuesta al IGF-I en las células de la granulosa del folículo dominante (Funston et al., 1996). Aunado a esto el IGF-I aumenta la capacidad esteroideogénica en las células de la granulosa, mediante

la aromatasas, enzima encargada de convertir a los andrógenos en estrógenos (Campbell et al., 1996; Gutiérrez et al., 1997).

En el ovario hay pocos cambios a nivel intrafolicular de IGF's durante el crecimiento folicular terminal y atresia. En contraste, las concentraciones de proteínas de enlace de IGF's disminuyen marcadamente durante el crecimiento folicular terminal (Armstrong et al., 2000) pero se incrementan en folículos atrésicos (Armstrong et al., 1998; Webb et al., 1999). Por lo que estas proteínas de unión presentes en forma soluble en el fluido folicular, podrían jugar un papel importante secuestrando los IGF's y disminuyendo su biodisponibilidad (Monget y Monniaux, 1995; Webb et al., 1999).

Por otra parte Cole et al. (1991) observaron un aumento en el número de partos gemelares por la administración prolongada de rbST. La frecuencia de este efecto incitó a la realización de estudios para dilucidar el papel que desempeña la rbST en el desarrollo folicular. Gong et al. (1991) demostraron que la rbST aumenta el número de folículos antrales del rango de 2 a 5 mm de diámetro reclutados en las ondas foliculares. Posteriormente, reportaron que la rbST no afectó la frecuencia del desarrollo de las ondas foliculares en el ovario, ni alteró los efectos inhibitorios del folículo dominante sobre el grupo de folículos subordinados (Gong et al., 1993a).

Si bien el tratamiento con rbST ha logrado incrementar el número de folículos pequeños antrales (Gong et al., 1991), fue de interés determinar si estos folículos tienen la capacidad de crecer en respuesta a un tratamiento superovulatorio acompañado con rbST. Los primeros experimentos fueron contradictorios. Herrler et al. (1990), reportó que el tratamiento con rbST y después con PMSG aumentó el número de embriones

producidos mientras que Rieger et al. (1993), describió un efecto limitado de la rbST y la FSH en el desarrollo folicular y ningún incremento en los embriones transferibles. Como la diferencia parecía ser el tiempo de aplicación de la rbST con respecto al tratamiento de las gonadotropinas, en posteriores investigaciones la rbST fue administrada cinco días antes que el tratamiento con PMSG en vaquillas (Gong et al., 1993b), aumentando el número de folículos > 5 mm, el número de ovulaciones y el número total de embriones. En estudios subsecuentes del mismo laboratorio, la FSH fue empleada en lugar de la PMSG para inducir la superovulación y en dos de los tres experimentos, el porcentaje de embriones fue aumentado en los animales tratados con rbST y FSH comparados con FSH sola (Gong et al., 1996; Kuehner et al., 1993).

Estudios subsecuentes revelaron una interacción entre factores nutricionales, lactación y tratamiento con rbST en el patrón de las poblaciones foliculares. En vaquillas, la rbST incrementa el número de folículos antrales pequeños (< 5 mm) sin alterar el número de folículos mayores en el ovario (Gong et al., 1991; 1993a); mientras que en vacas en lactación, el incremento fue en el número de folículos medianos entre 6 y 9 mm de diámetro (De la Sota et al., 1993). Un segundo estudio mostró que las diferencias en el contenido energético de la dieta no altera por el mismo la población folicular en vacas lecheras, pero que la combinación de dietas altas en energía cambia el efecto de la rbST en los folículos de clase 6-9 mm a los folículos pequeños 3-5 mm (Lucy et al., 1993). Por lo tanto, estos datos sugieren que durante la lactación y en presencia de dietas con energía reducida la rbST favorece el proceso de foliculogénesis.

Por otro lado, la producción de somatotropina e IGF-I esta íntimamente relacionada con el estatus nutricional del animal y la fase de lactación (Senatore et al., 1996; Spicer et al., 1990; Sharma et al., 1994). Un aumento en la concentración hormonal de somatotropina conlleva a un incremento en el IGF-I y este mismo funciona como su principal retroalimentador negativo (Gallo y Block, 1990). Sin embargo en situaciones de balance energético negativo, esta relación se desacopla y disminuye la producción de IGF-I aun cuando hay un aumento en las concentraciones de somatotropina. Si el IGF-I es requerido para una función normal del ovario, sus disminuciones podrían llevar a funciones más limitadas de folículos maduros y del CL (Lucy et al., 1999; Mc-Guire et al., 1992; Vicini et al., 1991). Ese balance energético negativo puede aumentar el periodo de anestro posparto y disminuir la fertilidad a los primeros servicios, dependiendo de la severidad de éste (Spain et al., 1997; Cole y Lucy, 1997; Beam y Buttler, 1999). Por lo tanto, el IGF-I puede ser una señal metabólica para regular la reproducción (Judd, 1998; Webb y Armstrong, 1998). En un estudio realizado en vacas altas productoras, se encontró que aquellas que tuvieron un balance energético positivo durante las primeras 12 semanas de la lactación presentaron concentraciones mayores de IGF-I circulante que las que estuvieron en balance energético negativo (Senatore et al., 1996). Las vacas en balance positivo también presentan concentraciones mas altas de progesterona durante la fase lútea, existiendo correlaciones positivas entre balance energético y concentraciones de progesterona (Villa-Godoy et al., 1988), así como entre balance energético y concentraciones de IGF-I (Spicer et al., 1990)

2.2.2 La Somatotropina y el cuerpo lúteo.

El CL es una glándula temporal que se desarrolla a partir de un folículo ovulatorio. Después de la ovulación, la cavidad folicular es poblada por células de la granulosa y de la teca interna formando el CL, que tiene como función principal la secreción de progesterona, hormona fundamental en el establecimiento y mantenimiento de la gestación (Niswender et al., 1994).

El CL esta formado por dos grandes tipos de poblaciones celulares: las células esteroidogénicas y las no esteroidogénicas. Las células esteroidogénicas se dividen en células grandes y pequeñas; además de sus diferencias en tamaño, los dos tipos de células lúteas presentan diferentes capacidades esteroidogénica y de respuesta a hormonas tróficas. Las células pequeñas responden a la LH aumentando su producción de progesterona, lo cual no sucede con las células grandes. Por su parte, las células grandes son las principales productoras de progesterona en el CL, sintetizan oxitocina y son susceptibles a la acción luteolítica de la $PGF_{2\alpha}$ (Pate, 1994), además presentan una gran cantidad de receptores para somatotropina (Lucy et al., 1993; Lucy et al., 1999).

La somatotropina y los factores de crecimiento son necesarios para el crecimiento y desarrollo del CL en rumiantes (Lucy et al., 1999; Reynolds y Redmer, 1999), porque los CL's de bajo peso en ovejas hipofisectomizadas pueden alcanzar casi el tamaño normal con la aplicación de somatotropina y LH exógena (Juengel et al., 1997). También se ha observado que animales con deficiencia de receptores a somatotropina en el hígado (concentraciones sanguíneas altas de somatotropina pero

bajas de IGF-I) presentan CL's más pequeños y fases lúteas cortas (Chase et al., 1998).

Se ha observado que la somatotropina estimula la secreción de progesterona del CL (Lucy et al., 1994a; Liebermann et al., 1996). Los animales que recibieron rbST durante los primeros 10 días del ciclo, mostraron una producción de progesterona significativamente mayor (Gallo y Block, 1991; Schemm et al., 1990), desarrollaron más rápidamente el CL, presentaron CL's más pesados y tuvieron una luteolisis más retardada que los animales no tratados (Lucy et al., 1994b;1995). La estimulación de la somatotropina sobre la función lútea puede ser directa ya que sus células grandes poseen una gran cantidad de receptores para ella (Spicer y Stewart, 1996) y la cantidad de ARNm para los receptores de somatotropina es mayor en el CL que en ningún otro tejido reproductivo (Kirby et al., 1996; Lucy et al., 1998). Este efecto puede también ser mediado por el IGF-I, el cual incrementa sus concentraciones en la circulación después de la administración de rbST (Sharma et al., 1994; Wallis, 1988) y útero (Lucy et al., 1995; Wathes et al., 1998a). Este factor de crecimiento ha demostrado aumentar la producción de progesterona al adicionarlo a células de la granulosa bovina *in vitro* (Campbell et al., 1996; Gutiérrez et al., 1997) y a células lúteas (Stewart et al., 1995).

Estudios *in vitro* han demostrado que la insulina e IGF-I pueden estimular la producción de progesterona por células del CL (McArdle y Holtorf, 1989). Mientras que *in vivo* se encontró que las concentraciones de progesterona e IGF-I están correlacionadas positivamente en el posparto del ganado lechero (Spicer et al., 1990; 1993) y las vacas que están en balance energético negativo presentan menores

concentraciones de IGF-I y progesterona en comparación con los animales que se encuentran en balance energético positivo (Spicer et al., 1990). Además, el tratamiento con rbST aumenta las concentraciones de IGF-I en suero elevando también las concentraciones de progesterona (Gong et al., 1993b). Por lo tanto, se ha demostrado que tanto la somatotropina y el sistema de IGF's juegan un papel importante en la secreción de progesterona por el CL, tanto *in vitro* como *in vivo* (Spicer y Echtermkamp, 1995).

La inconsistencia de la respuesta en el CL a somatotropina sugiere que otros factores fisiológicos pueden influir en el efecto estimulador de somatotropina exógena. De los factores que pueden alterar su efecto son el aumento en la producción de leche y la pérdida de condición corporal, lo que afecta la función lútea en animales tratados (Gallo y Block, 1990). En un estudio con vacas en lactación, ocurrió un periodo de anestro después del tratamiento con rbST (Waterman et al., 1993), lo que indica que la somatotropina induce tales cambios en la producción láctea que pueden comprometer el balance energético, la función lútea y confundir el efecto en la reproducción (Gallo y Block, 1990; 1991).

2.2.3 La Somatotropina y el desarrollo embrionario.

El desarrollo embrionario es el resultado de una delicada interacción entre el programa cromosómico de cada cigoto y el aparato genital materno. El desarrollo del embrión comprende un periodo inicial de proliferación y diferenciación celular en donde participan factores autocrinos, en su mayoría factores de crecimiento generados por el

embrión para sostener su propio desarrollo (Gandolfi, 1994). También participan factores de crecimiento y proteínas específicas producidas por el oviducto y el útero, así como sustancias nutritivas tales como sustratos energéticos, iones, aminoácidos y vitaminas (Gandolfi, 1994).

Matsui et al. (1997) y Winger et al. (1997) afirman que los embriones madurados y fertilizados *in vitro* progresan exitosamente al estado de blastocito suplementando el medio de cultivo con "factores embriotróficos" (TGF- β , FGF- β e IGF-I), mientras que Izadyar et al. (1997a,b) mediante la adición de somatotropina al medio de cultivo aceleró la maduración del cúmulus, así como su expansión y promovió el desarrollo temprano del embrión, por lo tanto la somatotropina puede también mejorar la fertilización y división celular del cigoto.

Se sabe que el IGF-I y el IGF-II participan en la diferenciación y el crecimiento del embrión. Posiblemente son mediadores de la síntesis de proteínas, de la estimulación rápida del transporte de aminoácidos, consumo de glucosa, además de estimular la síntesis de interferón τ durante el reconocimiento materno de la gestación (Simmen et al., 1993; Wathes et al., 1998b). A su vez, algunos investigadores han demostrado la presencia de IGF-I tanto en el líquido oviductal (Makarevich y Sirotkin, 1997) como en fluidos uterinos (Wathes et al., 1998a), así como la existencia de receptores para IGF-I en el embrión bovino (Simmen et al., 1993; Watson et al., 1992). Por lo que se propone que el IGF-I participa en el desarrollo embrionario.

De acuerdo a los efectos ejercidos por la rbST en la función reproductiva, Morales (1993) realizó un experimento donde administró rbST el día del estro y el día 10 postinseminación a vacas repetidoras, encontrando un mejoramiento significativo de la fertilidad y una tendencia al aumento de la progesterona en las vacas tratadas. Los posibles mecanismos por los cuales se logró aumentar el índice de preñez en ese trabajo, podrían ser explicados por varias vertientes, entre ellas está un probable efecto de la rbST en la maduración del ovocito (Lorenzo et al., 1995; Ruttler y Manns, 1991). Otra posibilidad es el mejoramiento de las condiciones ambientales del oviducto y/o uterinas, vía IGF-I, para estimular el desarrollo temprano del embrión (Makarevich y Sirotkin, 1997; Wathes et al., 1998b; Zavy, 1994), o bien un efecto directo de la rbST en el desarrollo del embrión (Izadyar et al., 1997a;b; Lucy et al., 1995; Matsui et al., 1997; Winger et al., 1997; Zavy, 1994). Otra posible explicación para el aumento de la fertilidad observado, es el incremento en la producción de progesterona por el CL, ya sea mediado por el IGF-I (Spicer y Echtermkamp, 1995) o por un efecto directo de la rbST sobre el CL (Gallo y Block, 1991).

Para continuar con la misma línea de investigación de la rbST en la fertilidad de las vacas lecheras, el presente estudio busca conocer el efecto de un tratamiento único de rbST al momento de la inseminación sobre el índice de concepción en vacas de primer servicio y vacas repetidoras. Así mismo se comparará el efecto del tratamiento con rbST en los niveles de progesterona durante los primeros 10 días post-tratamiento.

OBJETIVOS :

1.- Evaluar el efecto de una sola dosis de rbST (500 mg) en el momento de la inseminación artificial en la fertilidad (índice de concepción) de vacas en el primer servicio y en vacas repetidoras.

2.- Comparar las concentraciones de progesterona en vacas tratadas con rbST y en vacas testigo, durante los primeros 10 días post-servicio.

CAPITULO 3

MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se realizó entre abril y octubre de 1999, en el Complejo Agroindustrial de Tizayuca (CAIT) Hidalgo, ubicado a 19° 50' de altitud norte, 98° 50' de longitud oeste y 2109 metros sobre el nivel del mar con un clima Cb (wo) (e)g; su temperatura promedio es de 15 a 26°C y la precipitación pluvial es de 611.2 mm anuales (García, 1987).

Se utilizaron 678 vacas Holstein multíparas de 17 establos, con manejo y alimentación similar. De estas vacas, 362 a primera inseminación posparto servicio (81.8 ± 3.5 días posparto, 0.97 ± 0.06 estros, 3.7 ± 0.54 condición corporal y 2.7 ± 0.7 partos) y 316 vacas repetidoras (vacas con cuatro a ocho servicios) (245 ± 3.7 días posparto, 5.05 ± 0.05 servicios, 5.58 ± 0.06 estros, 3.49 ± 0.58 condición corporal y 3.0 ± 0.07 partos). Todas las vacas fueron examinadas por palpación rectal y seleccionadas por no presentar anomalías detectables en el aparato reproductor.

Las vacas fueron distribuidas aleatoriamente en dos grupos. El grupo testigo, formado por 308 animales, de los cuales 167 vacas eran de primer servicio y 141 repetidoras. El grupo tratado estuvo conformado por 370 animales (195 a primer servicio y 175 repetidoras) que recibieron una sola dosis de 500 mg de rbST (Lactotropina Monsanto, Europe, distribuida por Elanco, Méx.) de liberación prolongada (1.4 ml) por vía subcutánea en el momento de la inseminación artificial.

Los animales que se seleccionaron en el estudio presentaron una condición corporal mínima de dos en la escala del 1-5 descrita por Ferguson et al. (1994) y clínicamente sanas.

La detección de estros fue realizada mediante la observación por una persona experimentada en cada establo, tres veces al día (5:00 a.m., 3:00 p.m. y 10:00 p.m.), durante una hora como tarea exclusiva y observaciones adicionales al realizar otras labores. La inseminación artificial se realizó aproximadamente 12 horas después del inicio del estro por el mismo inseminador en los 17 establos. En ese momento, los animales fueron medidos del perímetro torácico con una cinta métrica para obtener el peso aproximado del animal; así como el registro del número de partos, número de estros previos al servicio evaluado, número de servicio, días posparto, condición corporal con medios puntos y tipo de puerperio por el que haya cursado la vaca en el posparto, considerando anormal aquellos padecimientos como retención de placenta, metritis y piometra. El diagnóstico de gestación se realizó mediante la técnica de palpación rectal a los 45 días post-inseminación.

Se tomaron aleatoriamente 40 vacas (10 para cada grupo tratado con rbST y 10 para cada grupo testigo) para obtener muestras de sangre por punción de la vena o arteria caudal y determinar las concentraciones de progesterona. Las muestras fueron colectadas diariamente durante 10 días a partir del día de la inseminación (día 0); se utilizaron tubos estériles de 7 ml con EDTA como anticoagulante y con vacío. La sangre fue centrifugada a 3000 r.p.m. por 15 min. durante la primera hora después de

su obtención. El plasma fue separado y congelado a -20°C (Pulido et al., 1991). Las concentraciones de progesterona se determinaron en el Laboratorio de Endocrinología de la FMVZ (UNAM) mediante el método del radioinmunoanálisis (RIA). La sensibilidad del método fue de 0.1 ng/ml, con un coeficiente de variación intraensayo entre 2.54% y 11.83% e interensayo de 6.64% a 16.65 %.

-Análisis estadístico

Para evaluar el efecto del tratamiento sobre la fertilidad (animales gestantes), los datos se analizaron mediante un modelo lineal, después de hacer la transformación logit de la variable de respuesta, usando como variables fijas al tratamiento (rbST o no rbST) y como variable aleatoria al hato. Igualmente, el efecto del número de estros previos al servicio, días posparto, condición corporal, número de partos y número de servicios y el tipo del animal (primer servicio y repetidoras) fueron evaluados en el mismo modelo, sin embargo al no resultar significativos fueron excluidos del modelo final (SAS, 1993; Genstat 5).

$$Y_i = X_i B + E_i$$

Donde:

Y_i = la variable de respuesta (Gestante, Vacía)

X_i = vector de variables explicativas

B = establo, tratamiento, tipo

E_i = error aleatorio.

Para estudiar si existió diferencia en la condición corporal, número de partos, tipo de puerperio y número de servicio, de acuerdo al resultado de la inseminación artificial (vacía o gestante) y al tratamiento (tratada con rbST o no tratada), se utilizó la prueba de Wilcoxon para variables discretas (no paramétricas) y para las variables continuas (paramétricas) como días posparto, número de estros y peso aproximado se utilizó la prueba de Z. (SAS, 1993).

Las concentraciones de progesterona fueron analizadas a través de un análisis de varianza para mediciones repetidas incluyendo como variable independiente el tratamiento, animal anidado dentro del tratamiento, los días del ciclo estral y la interacción entre el tratamiento y días (SAS,1993).

CAPITULO 4

RESULTADOS

Al comparar la fertilidad (porcentaje de concepción) entre el total de animales tratados y testigo se encontró que el porcentaje de concepción fue mayor ($P < 0.05$) en las vacas que recibieron rbST que las testigo (Cuadro 1). Cuando se comparó por tipo de vaca, se encontró que las vacas de primer servicio tratadas con rbST tuvieron un porcentaje de gestación similar a las testigos ($P > 0.05$). En contraste el porcentaje de gestación en las vacas repetidoras tratadas con rbST fue superior ($P < 0.05$) al de las vacas repetidoras testigos (Cuadro 2).

Cuadro 1			
Porcentaje de concepción por grupo tratado y testigo en vacas a primer servicio y repetidoras			
	rbST	TESTIGO	P
Primer servicio y repetidoras.	42.7% n= 158/370	35% n= 107/308	<0.05

Cuadro 2			
Porcentaje de concepción en vacas de primer servicio y repetidoras tratadas con rbST en el momento de la inseminación artificial			
TIPO	rbST	TESTIGO	P
VACAS DE 1er. SERVICIO	39% n=77/195	35% n=58/167	>0.05
VACAS REPETIDORAS	46% n= 81/175	35% n= 49/141	<0.05

Al analizar las variables de acuerdo al resultado del tratamiento (vacía o gestante) no se encontró diferencia en la condición corporal, número de partos, días posparto y peso (Cuadro 3); por lo tanto se puede considerar que la respuesta al tratamiento no fue alterada por las variables que se consideraron en el estudio, ya que al analizar el efecto de todas las variables en un modelo que incluía el tratamiento y el tipo de animal (primer servicio y repetidora) no se encontró diferencia alguna.

Cuadro 3					
Comparación de variables incluidas en el estudio de acuerdo al resultado de la inseminación artificial (media±error est.)					
Grupo	n	Condición corporal	Número de partos	Días posparto	Peso Kg
Vacías	413	3.84±0.48 ^a	2.86±0.06 ^a	178±4.01 ^a	572±2.6 ^a
Gestantes	265	3.29±0.62 ^a	2.17±0.07 ^a	169±5.17 ^a	567±3.4 ^a

a,b. Para una determinada columna, diferente literal indica diferencia significativa entre grupos experimentales.

Las concentraciones de progesterona fueron similares en las vacas tratadas y testigos tanto de primer servicio como en repetidoras (Figura 1).

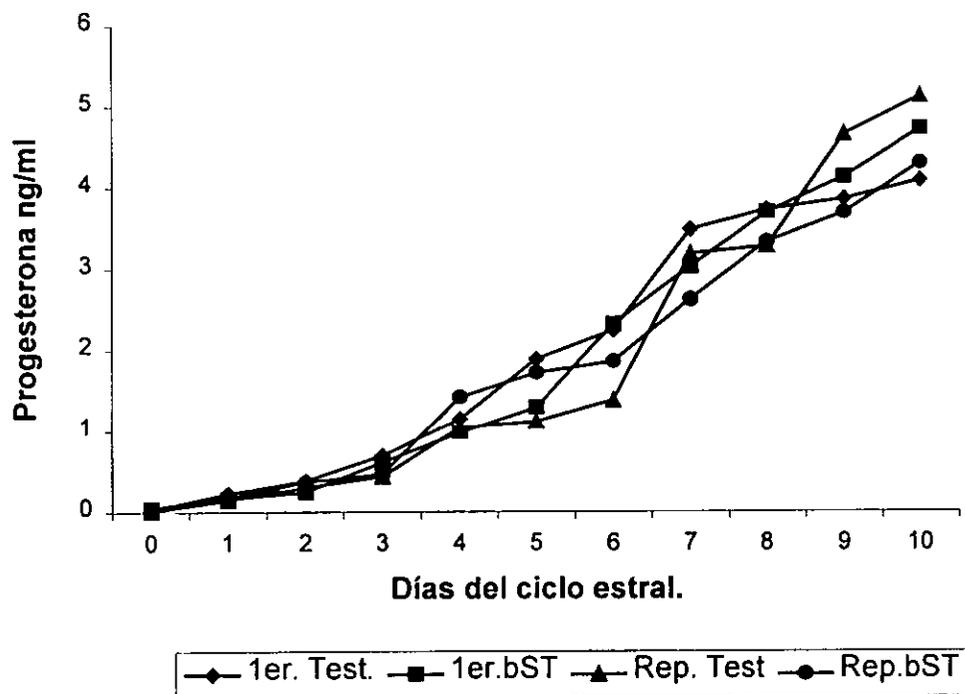


Figura 1. Concentraciones de progesterona plasmática durante los primeros 10 días del ciclo estral en vacas de primer servicio (1er.) o repetidoras (Rep.) que recibieron (rbST) o sin tratamiento (Test.).

CAPITULO 5

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de este trabajo muestran un efecto positivo de la administración de una sola dosis de rbST en el momento de la inseminación artificial en el porcentaje de concepción en vacas repetidoras. Estos resultados coinciden con lo encontrado por Morales (1993) quien obtuvo un mayor índice de concepción en vacas repetidoras al administrar la rbST al inicio del estro y una segunda dosis en el día 10 post-inseminación. En nuestro trabajo las vacas tratadas solo recibieron una inyección de rbST en el momento de la inseminación y de igual forma se logró un incremento en el porcentaje de concepción. Esto permite especular que probablemente el mayor efecto de la rbST sobre la fertilidad ocurre durante los primeros días post-servicio, momento en el cual el embrión es más susceptible a cualquier deficiencia en su medio ambiente y donde ocurren la mayor parte de retrasos del desarrollo que conducen posteriormente a la muerte embrionaria (Almeida, 1995). De esta forma, un segundo tratamiento en el día 10 ya no tendría efecto, ya que los embriones en este momento se encontrarían con retrasos irreversibles (Roberts, 1990).

Rodríguez (1999) realizó un estudio aplicando la rbST en el día 3 y 17 post-inseminación y no encontró diferencias en la fertilidad tanto en vacas repetidoras como en vacas de primer servicio. Estos resultados apoyan la hipótesis de que el efecto positivo de la rbST sobre la fertilidad es durante el periodo temprano del desarrollo embrionario. Por lo tanto, podría sugerirse que el efecto de la rbST aplicado en el día 3

post-inseminación sería demasiado tarde para influenciar de manera positiva en el desarrollo del embrión y/o en el ambiente oviductal y uterino.

Recientemente Morales (2000) realizó un tratamiento de superovulación y aplicó rbST al inicio del estro en vacas repetidoras encontrando una diferencia significativa ($P < 0.05$) en el porcentaje de embriones transferibles (84.3% y 54.5% en las vacas tratadas con rbST y testigo, respectivamente), sin alterar el número total de embriones producidos, ni las concentraciones de progesterona plasmática en los grupos. Estos resultados indican que existe un mecanismo por el cual la rbST favorece el desarrollo de los embriones el cual puede ser directo (Izadyar et al., 1996;1997a) o mediante su principal mediador el IGF-I (Rieger et al.,1998; Winger et al., 1997;Wathes et al., 1998a).

La ausencia de efecto de rbST en la fertilidad observada en las vacas de primer servicio en este estudio, coincide con lo documentado por Morales (2000), donde las vacas de primer servicio no mostraron un aumento en el número de embriones, ni en la proporción de embriones transferibles después de ser superovuladas y tratadas con rbST en el inicio del estro. Lo anterior contrasta con los resultados obtenidos en las vacas repetidoras tratadas con rbST, en las cuales si fue significativo el aumento en la proporción de embriones transferibles.

En humanos, la somatotropina se ha utilizado extensivamente en los tratamientos de infertilidad junto con gonadotropinas donde se requiere de una ovulación inducida (Homburg et al., 1995), fertilización *in vitro* y transferencia embrionaria (Owen et al., 1991). Esta hormona ha demostrado aumentar la sensibilidad a las gonadotropinas por

los ovarios, reduciendo hasta una tercera parte la dosis de hormona menopausica humana (Hillensjo y Bergh, 1993). En la fertilización *in vitro*, la adición de somatotropina a los medios de cultivo ha permitido obtener una mayor proporción de embriones fertilizados y transferibles, así como un mayor número de gestaciones (Younis et al., 1992; Izadyar et al., 1996;1997a,b), lo cual indica un efecto de la somatotropina en el desarrollo embrionario.

El mecanismo de acción de la rbST en el aumento de la fertilidad en vacas repetidoras se desconoce; sin embargo, puede estar asociado con los efectos propios de la somatotropina. Se sabe que después de un tratamiento de rbST se incrementan los niveles de IGF-I (Bauman, 1992), los cuales podrían ser los principales mediadores de los cambios a nivel del aparato reproductor (Wathes et al., 1998a,b). Así se tienen evidencias que el IGF-I participa en el desarrollo folicular (Spicer y Echterkamp, 1995; De La Sota et al., 1996) en la función del cuerpo lúteo (Spicer et al., 1993) y en el desarrollo embrionario (Matsui et al., 1997; Wathes et al., 1998a,b).

Si bien, la causa de una baja fertilidad en el ganado lechero podría ser la mortalidad embrionaria temprana y que esta se debe a un retraso en el desarrollo embrionario durante los primeros días de su división celular, es probable que el tratamiento con rbST ejerza una estimulación mediante el IGF-I en el desarrollo del embrión, o a través de la producción de sustancias oviductales y uterinas (Wathes et al., 1998b; Bazer et al., 1986; Brigstock et al.,1989). Existe evidencia que la adición de IGF-

l estimula el desarrollo de embriones bovinos fertilizados *in vitro* al estado de mórula en presencia de aminoácidos (Matsui et al., 1997). También se ha demostrado que la somatotropina en los medios de cultivo acelera la maduración nuclear del ovocito, promueve el desarrollo del embrión bovino al estado de blastocito al día 9 y aumenta la proporción de ovocitos fertilizados (Izadyar et al., 1996; 1997a).

En el trabajo de Rodríguez (1999) en el que se aplicó la rbST en el día 3 y 17 post-servicio, no se encontró efecto sobre la fertilidad, posiblemente debido al tiempo de aplicación ya que los niveles de IGF-I aumentan significativamente de 24 a 48 horas después de la inyección de rbST (Gong et al., 1993b) y esto puede ser demasiado tarde para ejercer alguna influencia sobre el embrión de cinco días, el que probablemente ya cursa por un proceso de retraso en su desarrollo o bien de degeneración. Al respecto, Almeida (1995) menciona que aproximadamente el 30% de los embriones son afectados por cambios ambientales desde la fertilización hasta el día 5 postestro, que degeneran al tiempo de su transformación a blastocisto.

Otro posible mecanismo de acción de la rbST en el mejoramiento de la fertilidad es el efecto que tiene en el desarrollo del folículo ovulatorio (Bever et al., 1997; Spicer y Enright, 1991). Se sabe que la rbST estimula el crecimiento de los folículos pequeños (Gong et al., 1991) y mejora la respuesta superovulatoria (Kuehner et al., 1993; Gong et al., 1996). Sin embargo, en este trabajo la rbST fue aplicada al momento de la inseminación artificial lo que hace improbable de tener un efecto sobre el folículo ovulatorio. Además, Morales (2000) trató vaquillas con rbST al inicio del estro y no

encontró un efecto sobre las concentraciones de estradiol, el tiempo de la ovulación, el diámetro máximo del folículo, ni en el tamaño del CL.

En diversos estudios se ha observado que la rbST y el IGFI estimulan la función del CL; por ejemplo, Lucy et al. (1993) mencionan que las células grandes del CL tienen receptores para la somatotropina, los cuales responden al estímulo de esta hormona. En estudios *in vitro* se ha encontrado que la adición de IGF-I incrementa la producción de progesterona (Gong et al., 1994; Spicer et al., 1993). Por otra parte en diversos trabajos se ha reportado que las vacas tratadas con rbST tienen concentraciones más elevadas de progesterona en las primeras fases lútea del tratamiento (Gallo y Block, 1991; Lucy et al., 1994; Schemm et al., 1990). Sin embargo, en este estudio no hubo diferencia en las concentraciones de progesterona en los primeros 10 días después del estro entre ninguno de los grupos, lo que coincide con lo observado por Morales (1993) quien no encontró diferencias en las concentraciones de progesterona en las vacas repetidoras tratadas y testigos, ni entre vaquillas tratadas y testigos (Morales, 2000).

El papel de las disfunciones del CL también se ha discutido como una causa de infertilidad. Así se ha encontrado que las vacas repetidoras tienen afectada la función lútea produciendo menores concentraciones de progesterona (Kimura et al., 1987; Shelton et al., 1990). En este estudio no fue evidente una diferencia en las concentraciones de progesterona entre vacas de primer servicio y repetidoras, ni entre las vacas tratadas con rbST y testigos. Estos resultados coinciden con lo reportado por Morales et al. (en prensa) quienes no encontraron diferencia en las concentraciones de

progesterona entre las vacas a primer servicio, vacas repetidoras y vaquillas a primer servicio, en los primeros 15 días post-inseminación.

El efecto de la rbST en la fertilidad fue significativo en las vacas repetidoras pero no en vacas a primer servicio. La causa de esta diferencia se desconoce, aunque pudiera relacionarse con el mecanismo de acción de la somatotropina. Se conoce que las vacas que se encuentran en balance energético negativo presentan menores concentraciones de IGF-I (Spicer et al., 1990) y responden con concentraciones disminuidas del mismo al tratamiento con rbST en comparación con las vacas que se encuentran en balance energético positivo (Vicini et al., 1991). Aunque en este estudio no se midieron el balance energético ni las concentraciones de IGF-I; otros investigadores han observado que la respuesta de IGF-I es mayor para las vacas en la lactancia tardía que en la lactancia temprana (Cohick, 1998). Así, es posible que las vacas de primer servicio que se encuentran en balance energético negativo y más cerca del pico de lactación no hayan respondido igual a la rbST que el grupo de vacas repetidoras, las cuales tenían por lo menos 130 días en leche alejadas del pico de lactación. Además, las vacas al inicio del tratamiento con rbST muestran una serie de ajustes metabólicos que le permiten satisfacer la demanda de nutrientes a la glándula mamaria sin comprometer su integridad fisiológica (Lanna y Bauman, 1999; Lanna et al., 1995) y tal efecto podía ser más agudo en las vacas a primer servicio que incluso pueden padecer un balance energético más negativo en los primeros días o semanas del tratamiento con rbST (Gallo y Block, 1990).

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, se concluye que una dosis de 500 mg de rbST administrada en el momento de la inseminación artificial incrementa la tasa de concepción en vacas repetidoras, sin que sus efectos sean mediados por la condición corporal, el tiempo posparto, el número de servicios. Las concentraciones de progesterona en los primeros 10 días del ciclo estral no difirieron entre los grupos.

CAPITULO 6

LITERATURA CITADA

1. Adams P.G. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. J. Reprod. Fertil. 1999; Suppl. 54: 17-32.
2. Albiñ A., Gustafsson H. and Rodríguez-Martínez H. Maternal influence on the early development of asynchronously transferred bovine embryos. Anim. Reprod. Sci. 1991; 24: 25-35.
3. Almeida A. P. Early mortality in "repeat breeder" cows. Ars Veterinaria. 1995; 11: 18-34.
4. Armstrong G. D., Gutierrez G. C., Baxter G., Glazirin L. A., Mann E. G., Woad K. J., Hogg O. C and Webb R. Expression of messenger ribonucleic acid encoding insulin-like growth factor (IGF)-I, II and type I IGF receptor in bovine ovarian follicles. Endocrinology. 2000;165:101-113.
5. Armstrong G. D., Baxter G., Gutierrez G. C., Hogg O. C., Glazirin L. A., Campbell K. B., Bramley A. T. and Webb R. Insulin-like growth factor binding 2 and 4 messenger ribonucleic acid expression in bovine ovarian follicles: effects of gonadotropins and developmental status. Endocrinology. 1998; 139: 2146-2154.
6. Badinga L., Collier R. J., Thatcher W. W. and Wilcox C. J. Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environment. J. Dairy Sci. 1985; 68: 78-85.
7. Bascom S. S. and Young J. A. A summary of the reasons why farmers cull cows. J. Dairy Sci. 1998; 81: 2299-2305.
8. Bauman E. D. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. J. Dairy Sci. 1992; 75: 3432-3451.
9. Bazer F. W., Vallet J. L., Roberts R. M., Sharp D. C. and Thatcher W.W. Role of conceptus secretory products in establishment of pregnancy. J. Reprod. Fert. 1986; 76: 841- 850.

10. Beam W. S. and Butler R. W. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. J. Reprod. Fertil. 1999; (suppl) 54:411-421.
11. Bevers M. M., Dieleman J. S., Van den Hurk R. and Izadyar F. Regulation and modulation of oocyte maturation in the bovine. Theriogenology. 1997; 47: 13-22.
12. Bondurant R. H., Revah I., Franti C., Harman R. J., Hird D., Klinborg D. Effect of gonadotropin releasing hormone on fertility in repeat breeder California dairy cows. Theriogenology. 1991; 35: 365-374.
13. Bowen R. A., Eldsen R. P. and Seidel G. E. Infection of early bovine embryos with bovine herpesvirus-1. Am. J. Vet. Res. 1985; 46: 1095-1097.
14. Brigstock D. R., Heap R. B. and Brown K. D. Polypeptide growth factors in uterine tissue and secretions. J. Reprod. Fertil. 1989; 85: 747-758.
15. Britt H. J. Impacto de la nutrición y el ambiente en la reproducción de altas productoras. México Holstein. 1997; abril: 16-22.
16. Burton L. J., McBride W. B., Block E., Glimm R. D. and Kennelly J. J. A review of bovine growth hormone. Can. J. Anim. Sci. 1994; 74: 167-201.
17. Butler R. W. Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. J. Dairy Sci. 1998; 81: 2533-2539.
18. Cahill L. P. and Mauleon P. A study of the population of primordial and small follicles in the sheep. J. Reprod. Fertil. 1981; 61: 201-206.
19. Campbell B. K., Scaramuzzi R. J. and Webb R. Induction and maintenance of oestradiol and immunoreactive inhibin production with FSH by ovine granulosa cells cultured in serum- free media. J. Reprod. Fertil. 1996; 106: 7-16.
20. Campbell B. K., Scaramuzzi R. J. and Webb R. The control of antral follicle development and selection in Sheep and cattle. J. Reprod. Fertil. 1995; (suppl) 49: 335-346.
21. Carroll D. J., Barton B. A., Anderson G. W. and Smith R. D. Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. J. Dairy Sci. 1988; 71: 3470-3481.

22. Chase C. C., Kirby J. C., Hammond C. A., Olson A. T. and Lucy C. M. Patterns of ovarian growth and development in cattle with a growth hormone receptor deficiency. J. Anim. Sci. 1998; 76:212-219.
23. Cohick S. W. Role of the insulin-like growth factors and their binding proteins in lactation. J. Dairy Sci. 1998; 81: 1769-1777.
24. Cole J. W. and Lucy C. M. Management of reproduction in dairy herds utilizing bovine somatotropin. In: Robert S. Younquist. W. Current Therapy in Large Animal Theriogenology. Saunders company. 1997:473-478.
25. Cole J. W., Madsen S. K., Hintz L. R. and Collier R. J. Effect of recombinantly-derived bovine somatotropin on reproductive performance of dairy cattle. Theriogenology. 1991; 36: 573-592.
26. Corbel M. J. Fungal infectious agents. In: Laing J. A. Brinley Morgan W. J. Wagner W. C. editors. Fertility and infertility in veterinary practice. London: Bailliere Tindall, 1988:228-233.
27. De La Sota L. R., Simmen A. F., Díaz T. and Thatcher W. W. Insulin-like growth factor system in bovine first-wave dominant and subordinate follicles. Biol. Reprod. 1996; 55: 803-812.
28. De La Sota L. R., Lucy C. M., Staples R. C. and Thatcher W. W. Effects of recombinant bovine somatotropin (sometribove) on ovarian function in lactating and nonlactating dairy cows. J. Dairy Sci. 1993; 76: 1002-1013.
29. Diskin M.G. and Sreenan J.M. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. J. Reprod. Fertil. 1980; 59: 463-468.
30. Donis R. O. Bovine viral diarrhea: the unraveling of a complex of clinical presentations. Bov. Proceed. 1988; 20: 16-22.
31. Ellington J. E. The bovine oviduct and its role in reproduction: a review of the literature. Cornell Vet. 1991; 81: 313-328.
32. Ellis W. A. and Thiermann AB. Isolation of leptospirosis from the genital tracts of Iowa cows. Am. J. Vet. Res. 1986;47:1694-1696.
33. Elrod C. C. and Butler W. R. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. J. Anim. Sci. 1993; 71: 694-701.

34. Etherton D. T. and Bauman E. D. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. Physiological Reviews. 1998; 78: 745-761.
35. Ferguson J. D. Galligan D. T. and Thomsen N. Principal descriptor of body condition score in Holstein cows. J. Dairy Sci. 1994; 77: 2695- 2703.
36. Ferguson J. D., Galligan D. T. and Blandchard T. Blood urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. J. Dairy Sci. 1991; (Suppl. 1): 242 Abstr.
37. Funston R. N., Seidel Jr. G. E., Klindt J. and Roberts A. J. Insulin-like growth factor-binding proteins in bovine serum and follicular fluid before and after the preovulatory surge of luteinizing hormone. Biol. Reprod. 1996; 55:1390-1396.
38. Gallo F. G. and Block E. Effects of recombinant bovine somatotropin on nutritional status and liver function of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 1990; 73: 3276-3286.
39. Gallo F. G., and Block E. Effects of recombinant bovine somatotropin on hypophyseal and ovarian functions of lactating dairy cows. Can. J. Anim. Sci. 1991; 71: 343-353.
40. Gandolfi F. Autocrine, paracrine and environmental factors influencing embryonic development from zygote to blastocyst. Theriogenology. 1994; 41: 95-100.
41. Gandolfi F., Brevini T. A. and Moor. R. M. Effect of oviduct environment on embryonic development, J. Reprod. Fertil. 1989; Suppl. 38: 107-115.
42. García-Bojalil M. C., Staples R. C., Thatcher W. W. and Drost M. Protein intake and development of ovarian follicles and embryos of superovulated nonlactating dairy cows. J. Dairy Sci. 1994; 77: 2537-2548.
43. García E. Modificación al sistema de clasificación climática de Köpen. 4ª ed. México D. F. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. 1987.
44. GENSTAT versión 5.
45. Geisert R. D. Zavy M. T. Biggers B. G. Garrett J. E. and Wettemann R.P., Characterization of the uterine environment during early conceptus expansion in the bovine. Anim. Reprod. Sci. 1988; 16: 11-25.
46. Gong G. J., Wilmut I., Bramley A. T. and Webb R. Pretreatment with recombinant bovine somatotropin enhances the superovulatory response to FSH in heifers. Theriogenology. 1996; 45: 611-622.

47. Gong G. J., Bramley A. T., Gutiérrez G. C., Peters R. A. and Webb R. Effects of chronic treatment with a gonadotrophin-releasing hormone agonist on peripheral concentrations of FSH and LH and ovarian function in heifers. Biol. Reprod. 1995; 105: 263-270.
48. Gong G. J., Macbride D., Bramley T. A. and Webb R. Effects of recombinant bovine somatotropin, insulin-like growth factor-I and insulin on bovine granulosa cell steroidogenesis in vitro. J. Endocrinology. 1994; 143: 157-163.
49. Gong G. J., Bramley A. T. and Webb R. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian follicular growth and development in heifers. J. Reprod. fertil. 1993a; 97: 247-254.
50. Gong G. J., Bramley A. T., Wilmut I. and Webb R. Effect of recombinant bovine somatotropin on the superovulatory response to pregnant mare serum gonadotropin in heifers. Biol. Reprod. 1993b; 48: 1141-1149.
51. Gong G. J., Bramley A. T. and Webb R. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers: Follicular populations and peripheral hormones. Biol. Reprod. 1991; 45: 941-949.
52. Gutiérrez G. C., Campbell K. B. And Webb R. Development of a long-term bovine granulosa cell culture system: Induction and maintenance of estradiol production, response to follicle-stimulating hormone, and morphological characteristics. Biol. Reprod. 1997; 56: 608-616.
53. Gustafsson H. Characterization of embryos from repeat breeder and virgin heifers. Theriogenology. 1985; 23:487-498.
54. Gustafsson H. and Larsson K. Embryonic mortality in heifers after artificial insemination and embryo transfer differences between virgin and repeat breeder heifers. Res. Vet. Sci. 1985; 39:271-274.
55. Hammond M. J., Mondschein J. S, Samaras S.E. and Canning S. F. The ovarian insulin-like growth factors, a local amplification mechanism for steroidogenesis and hormone action. J. Steroid Biochem. Molec. Biol. 1991; 40: 411-416.
56. Hasler J. F., Bowen R. A., Nelson L. D. and Seidel G. E. Serum progesterone concentrations in cows receiving embryo transfers. J. Reprod. Fertil. 1980; 58: 71-78.

57. Hernández C. J. Cuerpos lúteos de vida corta en la vaca: desarrollo, causas y efecto sobre la fertilidad. VII Curso Internacional de Reproducción Bovina. AIBIR A. C. México D. F. 19-22 de marzo de 1997. 271-278.
58. Herrler A., Farries E. and Niemann H. A trial to stimulate insulin-like growth factor-I levels to improve superovulatory response in dairy cows. Theriogenology 1990; 33: 248-254.
59. Hill D. J. Growth factors and their cellular actions. J. Reprod. Fertil. 1989; 85: 723-734.
60. Hillensjo and Bergh C. Effects of growth hormone on reproduction. Acta endocrinologica. 1993; 128 (Suppl. 2) 23-25
61. Hombrug R. and Ostergaard H. Clinical applications of growth hormone for ovarian stimulation. Human Reprod. Update; 1995; 1: 264-275
62. Inskip K. E. Factors that affect fertility during oestrous cycles with short or normal luteal phases in postpartum cows. J. Reprod. Fertil. 1995; (suppl 49): 493-503.
63. Izadyar F., Colenbrander B. and Bevers M. M. Growth hormone enhances fertilizability of in vitro matured bovine oocyte. Theriogenology. 1997a; 47: 191(abstr.).
64. Izadyar F., Colenbrander B. And Bevers M. M. Stimulatory effect of growth hormone on in vitro maturation of bovine oocyte is exerted through the cyclic adenosine 3', 5' monophosphate signaling pathway. Biol. Reprod. 1997b; 57: 1484-1489.
65. Izadyar F., Colenbrander B. and Bevers M. M. Growth hormone stimulates in vitro bovine oocyte maturation and subsequent embryonic development. Theriogenology. 1996; 45:279 (abstr.)
66. Jordan E. R., Chapman T. E., Holtan D. W. and Swanson L. V. Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high producing dairy cows. J. Dairy Sci. 1983; 66: 1854.
67. Juengel J. L., Nett M. T., Anthony R. V. and Niswender D. G. Effects of luteotrophic and luteolytic hormones on expression of mRNA encoding insulin-like growth factors and growth hormone receptor in the ovine corpus luteum.. J of Reprod. Fertil. 1997; 110: 219-298.

68. Judd J. S. Disturbance of the reproductive axis induced by negative energy balance. Reprod. Fertil. Dev. 1998; 10:65-72.
69. Kaim M., Folman Y., Neumark H. and Kaufman W. The effect of protein intake and lactation number on postpartum bodyweight loss and reproductive performance of dairy cows. Anim. Prod. 1983; 37: 229-235.
70. Kaneene J. B., Coe P. H., Gibson C. D., Yamini B., Martinez R. O. and Morrow D. A. The role of *Haemophilus somnus* in bovine early embryonic death. II. Persistence of the organism in the uterus following intrauterine exposure. Theriogenology. 1986; 26: 795-801.
71. Kerbler T. L., Buhr M. M., Jordan L. T., Leslie K. E. and Walton J. S. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. Theriogenology. 1997; 47:703-714.
72. Kimura M., Nakao T., Moriyoshi M. and Kawata K. Luteal phase deficiency as a possible cause of repeat breeding in dairy cows. Br. Vet. J. 1987; 143: 560-566.
73. Kirby J. C., Smith F. M., Keisler H. D. and Lucy C. M. Follicular function in lactating dairy cows treated with sustained- release bovine somatotropin. J. Dairy Sci. 1997; 80: 273-285.
74. Kirby J. C., Thatcher W. W., Collier J. R., Simmen A. F. and Lucy C. M. Effects of growth hormone and pregnancy on expression of growth hormone receptor, insulin-like factor-I, and insulin-like growth factor binding protein-2 and -3 genes in bovine uterus, ovary and oviduct. Biol. Reprod. 1996; 55: 996-1002.
75. Kuehner F. L., Rieger D., Walton S. J., Zhao X. and Johnson H. W. The effect of a depot injection of recombinant bovine somatotropin on follicular development and embryo yield in superovulated holstein heifer. Theriogenology. 1993; 40: 1003-1013.
76. Lamming G. E., Darwash A. O. and Back H. L. Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. J. Reprod. Fertil. 1989; (suppl 37): 245-252.
77. Lanna D. P., Bauman E. D. Effect of somatotropin, insulin and glucocorticoid on lipolysis in chronic cultures of adipose tissue from lactating cows. J. Dairy Sci. 1999; 82: 60-68.

78. Lanna D. P., Houseknecht L. K., Harris M. D. and Bauman E. D. Effect of somatotropin treatment on lipogenesis, lipolysis, and related cellular mechanisms in adipose tissue of lactating cows. J. Dairy Sci. 1995; 78: 1703-1712.
79. Liebermann J., Schams D. and Miyamoto A. Effects of local growth factors on the secretory function of bovine corpus luteum during the oestrous cycle and pregnancy in vitro. Reprod. Fertil. Dev. 1996; 8: 1003-1011.
80. Linares T. Embryonic development in repeat breeder and virgin heifers seven days after insemination. Anim. Reprod. Sci. 1982; 4: 189-198.
81. Lorenzo L. P., Illera J. M., Illera C. J. and Illera M. Role of EGF, IGF-I, sera and cumulus cells on maturation in vitro of bovine oocyte. Theriogenology. 1995; 44: 109-118.
82. Lucy C. M., Bilby R. C., Birby J. C., Yuan W. and Boyd K. C. Role of growth hormone in development and maintenance of follicles and corpora lutea. J. Reprod. Fertil. 1999; (suppl)54:49-59.
83. Lucy C. M., Boyd K. C., Koenigsfeld T. A. and Okamura S. C. Expression of somatotropin receptor messenger ribonucleic acid in bovine tissue. J. Dairy Sci. 1998; 81: 1889-1895.
84. Lucy C. M., Thatcher W. W., Collier J. R., Simmen A. F., Ko Y., Savio D. J. and Badinga L. Effects of somatotropin on the conceptus, uterus and ovary during maternal recognition of pregnancy in cattle. Dom. Anim. Endocr. 1995; 12: 73-82.
85. Lucy C. M., Byatt C. J., Curran L. T., Curran F. D. and Collier J. R. Placental lactogen and somatotropin: Hormone binding to the corpus luteum and effects on the growth and functions of the ovary in heifers. Biol. Reprod. 1994a; 54:1136-1144.
86. Lucy C. M., Curran L. T., Collier J. R. and Cole J. W. Extended function of the corpus luteum and earlier development of the second follicular wave in heifers treated with bovine somatotropin. Theriogenology. 1994b; 41: 561-572.
87. Lucy C. M., De la Sota L. R., Staples R. C. and Thatcher W. W. Ovarian follicular populations in lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin (somatotrope) or saline and fed diets differing in fat content and energy. J. Dairy Sci. 1993; 76: 1014-1027.

88. Lucy C. M. Savio D. J. , Badinga L., De la Sota L. R. and Thatcher W. W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. J. Anim. Sci. 1992; 70: 3615-3626.
89. Macmillan L. K., Lean J. L. and Westwood T. C. The effects of lactation on the fertility of dairy cows. J. Aust. Vet. 1996; 73:141-147.
90. Macmillan K. L., Taufa V. K., Day A.M. and Peterson A. J. Effects of supplemental progesterone on pregnancy rates in cattle. J. Reprod. Fertil. 1991;43:304.
91. Makarevich A. V. and Sirotkin V. A. The involvement of the GH/IGF-I axis in the regulation of secretory activity by bovine oviduct epithelial cells. Anim. Reprod. Sci. 1997; 48: 197-207.
92. Matsui M., Takahashi Y., Hishinuma M. and Kanagawa H. Stimulation of the development of bovine embryos by insulin and insulin- like growth factor (IGF-I) is mediated through the IGF-I receptor. Theriogenology. 1997; 48:605-616.
93. McArdle C. A. and Holtorf A. P. Oxytocin and progesterone release from bovine corpus luteal cells in culture: Effects of insulin-like growth factor-1, insulin and prostaglandins. Endocrinology. 1989; 124: 1278-1286.
94. McClure T. J. An experimental study of the cause of a nutritional and lactational stress infertility of pasture-fed cows, associated with loss of body weight at about the time of mating. Res. Vet. Sci. 1970; 11: 247-254.
95. McGuire A. M., vicini L. J., Bauman E. D. and Veenhuizen J. J. Insulin-Like growth factors and binding proteins in ruminants and their nutritional regulation. J. Anim. Sci. 1992; 70: 2901-2910.
96. Monget P. and Monniaux D. Growth factors and the control of folliculogenesis. J. Reprod. Fertil. 1995; 49 (suppl.): 321-333.
97. Monniaux D., Monget P., Besnard N., Huet C. and Pisselet C. Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. Theriogenology. 1997; 47: 3-12.
98. Morales R. S. Efecto de un tratamiento corto de somatotropina bovina sobre niveles hormonales, actividad ovárica y desarrollo embrionario en hembras Holstein. Tesis de Doctorado. FMVZ (UNAM), México D. F. 2000.
99. Morales R. S. Efecto de un tratamiento corto de somatotropina sobre la fertilidad. Tesis de Maestría. FMVZ (UNAM), México D. F. 1993.

100. Morales R. S., Hernández C. J., Rodríguez T. G. and Peña R. Comparación del porcentaje de concepción y la función lútea en vacas de primer servicio, vacas repetidoras y vaquillas Holstein. (en prensa Vet. Méx.).
101. Niswender G. D., Farin C. E., Gamboni F. Sawyer H. R and Nett T. M. Role of luteinizing hormone in regulating luteal function in ruminants. J. Anim. Sci. 1994; 72:453-458.
102. Owen E. J., Shoahm Z. Mason B. A. Ostergaard H. Jacobs H. S. Cotreatment with growth hormone after pituitary suppression, for ovarian stimulation in vitro fertilization: a randomized double-blind, placebo-control trial. Fertil Steril. 1991; 56: 1104-1110
103. Pate J. L. Celular component involved in luteolysis. J. Anim. Sci. 1994; 72: 1884-1888.
104. Plym K., Pehrson B. and Anderson L. The relationship between fertility of dairy cows and clinical and biochemical measurements with special reference to plasma glucose and milk acetone. J. Vet. Med. 1991; 38: 608-616.
105. Pulido A., Zarco L., Galina C. S., Murcia C., Flores G. and Posadas E. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. Theriogenology. 1991; 35: 965-975.
106. Putney D. J., Drost M. and Thatcher W. W. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between days 1 to 7 postinsemination. Theriogenology. 1988a. 30: 195-209.
107. Putney D. J., Malayer J. R., Gross T. S., Thatcher W. W., Hansen P. J. and Drost M. Heat stress-induced alterations in the synthesis and secretion of proteins and prostaglandins by cultured bovine conceptuses and uterine endometrium. Biol. Reprod. 1988b; 39: 717-728.
108. Reynolds P. L and Redmer A. D. Growth and development of the corpus luteum. J. Reprod. Fertil. 1999; (suppl)54: 181-191.
109. Rieger D., Walton J. S., Goodwin M. L. And Johnson W. H. The effect of co-treatment with bovine somatotropin on plasma progesterone concentration and

- number of embryos collected from superovulated Holstein freisan. Theriogenology. 1993; 35: 863-868.
110. Rieger D., Luciano A. M., Modina S., Pocar P., Lauria A. and Gandolfi F. The effects of epidermal growth factor and insulin-like growth factor 1 on the metabolic activity nuclear maturation and subsequent development of cattle oocyte in vitro. J. Reprod. Fertil. 1998; 112: 123-130.
111. Roberts M. R., Schalue-Francis T., Francis H. and Keisler D., Maternal recognition of pregnancy and embryonic loss. Theriogenology. 1990; 33:175-182.
112. Rodriguez T. G. Efecto de la administración de somatotropina bovina recombinante (rbST) los días 3y 17 postinseminación sobre la fertilidad y la función del cuerpo lúteo en vacas holstein de primer servicio y repetidoras. Tesis de Maestría FMVZ (UNAM) México D. F. 1999.
113. Rowson L. E., Lawson R. A., Moor R. M. and Baker A. A. Eggs transfer in the cow: Synchronization requirements. J. Reprod. Fertil. 1972; 28: 427-431.
114. Ruhnke R. L., Palmer N. C., Doig P. A. and Miller R. B. Bovine abortion and neonatal death associated with *Ureaplasma diversum*. Theriogenology. 1989; 21: 295-301.
115. Rutter M. L. and Manns G. J. Insulin-like growth factor I in follicular development and function in postpartum beef cows. J. Anim. Sci. 1991; 69:1140-1146.
116. Ryan D. P. Kopel E. Boland M. P. Godke R. A. Pregnancy rates in dairy cows following the administration of a GnRH analogue at the time of artificial insemination or at mid-cycle post-insemination. Theriogenology. 1991; 36: 367-377.
117. SAS. SAS/STAT User's guide, version 6.11 1993.5th ed. SAS institute inc. Cary, NC.
118. Sauerwein H., Miyamoto A., Günter J., Meyer H. and Schams D. Binding and action of insulin-like growth factors and insulin in bovine luteal tissue during the oestrous cycle . J. Reprod. Fertil. 1992; 96: 103-115.
119. Schemm R. S., Deaver R. D., Griel C. L. and Muller D. L. Effects of recombinant bovine somatotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows. Biol. Reprod. 1990; 42:815-821.

120. Schmutz S. M., Moker J. S., Pawlyshyn V., Haugen B. And Clark E. G. Fertility effects of the 14:20 Robertsonian translocation in cattle. Theriogenology. 1997; 47: 815-823.
121. Semambo D. K., Ayliffe T. R., Boyd J. S. and Tatlor D. J. Early abortion in cattle induced by experimental intrauterine infection with pure cultures of *Actinomyces pyogenes*. Vet. Rec. 1991; 129: 12-16.
122. Senatore M.E., Butler R.W. and Oltenacu A.P. Relationships between energy balance and post-partum ovarian activity and fertility in first lactation dairy cows. J. Anim. Sci. 1996; 62:17-23.
123. Shanks R. D. and Robinson J. L., Embryonic mortality attributed to inherent deficiency of uridine monophosphate synthase. J. Dairy Sci. 1989; 72: 3035-3039.
124. Sharma K. B., Vandehaar J .M. and Ames K. N. Expression of insulin-like growth factor-I in cows at different stages of lactation and in late lactation cows treated with somatotropin. J. Dairy Sci. 1994; 77:2232-2241.
125. Shelton K., Gayerie-De Abreu M. F., Hunter M. G., Parkinson T. J., Lamming G. E. Luteal inadequacy during the early phase of subfertile cows. J. Reprod. Fertil. 1990; 90:1-10.
126. Simmen M. C., Ko Y. and Simmen A. F. Insulin-like growth factors and blastocyst development. Theriogenology. 1993; 39:163-175
127. Skirrow S. Z. And Durant B. H. Induced *Tritrichomonas foetus* infection in beef heifers. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1990; 196: 885-889.
128. Spain N. J., Lucy C. M. and Hardin K. D. Effects of nutrition on reproduction in dairy cattle. In: Robert S. Younquist. W. Current Therapy in Large Animal. Theriogenology. Saunders company. 1997; 416-423
129. Spicer J. L. and Stewart E. R. Interaction among bovine somatotropin, insulin, and gonadotropins on steroid production by bovine granulosa and thecal cells. J. Dairy Sci. 1996; 79:813-821.
130. Spicer J. L. and Echtenkamp E. S. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. Dom. Anim. Endocr. 1995; 12:223-245.

131. Spicer L. J. Role of factors in ovarian follicular steroidogenesis. J. Anim. Sci. 1994; 72(suppl)1:abstr.544.
132. Spicer J. L., Alpizar E. and Echternkamp E. S. Effects of insulin, insulin-like growth factor-I and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and (or) insulin-like growth factor-I production in vitro. J. Anim. Sci. 1993; 71:1232-1241.
133. Spicer J. L. and Enright J. W. Concentrations of insulin-like growth factor I and steroids in follicular fluid of preovulatory bovine ovarian follicles: Effect of daily injections of a growth hormone-releasing factor analog and (or) thyrotropin-releasing hormone. J. Anim. Sci. 1991; 69:1133-1139.
134. Spicer J. L., Tucker B. W. and Adams D. G. Insulin-like growth factor-I in Dairy cows: Relationships among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrous behavior. J. Dairy Sci. 1990; 73:929-937.
135. Sreenan J. M. and Diskin M. G. Early embryonic mortality in the cow; Its relationship with progesterone concentration. Vet. Rec. 1983; 112: 517-521.
136. Stewart E. R., Spicer J. L., Hamilton D. T. and Keefer E. B. Effects of insulin-like growth factor-I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-induced steroidogenesis of bovine thecal cells: Involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor-I and luteinizing hormone. J. Anim. Sci. 1995; 73: 3719-3731.
137. Swanson L. V. and Young A. J. Failure of gonadotropin-releasing hormone or human chorionic gonadotropin to enhance the fertility of repeat-breeder cows when administered at the time of insemination. Theriogenology 1990; 34:955-963.
138. Thatcher W. W., Staples R. C., Danet-Desnoyers G., Oldick B. And Schmitt P. E. Embryo Health and mortality in sheep and cattle. J. Anim. Sci. 1994; 72(Suppl.-3):16-30.
139. Thatcher W. W., Binelli, M., Burke J., Staples R. C., Ambrose D. J. and Coelho S. Antiluteolytic signals between the conceptus and endometrium. Theriogenology. 1997; 47: 131-140.

140. Van Cleeff J., Drost M., Thatcher W. W. Effect of postinsemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. Theriogenology. 1991; 36: 795- 807.
141. Vicini L. J., Buonomo C. F., Veenhuizen J. J., Miller A. M., Clemmons R. D. and Collier J. R. Nutrient balance and stage of lactation affect responses of insulin, insulin-like growth factors I and II, and insulin-like growth factor-binding protein 2 to somatotropin administration in dairy cows. J. of Nutr. 1991; 121:1656-1664.
142. Villa-Godoy A., Hughes L. T., Emery S. R., Chapin T. L. and Fogwell L. R. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 1988; 71:1063-1072.
143. Wallis M. Mechanism of action of growth hormone. Hormones and their actions part II. 1988; 265- 296.
144. Waterman F. D., Silvia J. W. Hemken W. R., Heersche G., Swenson S. T. and Eggert G. R. Effect of bovine somatotropin on reproductive function in lactating dairy cows. Theriogenology. 1993; 40: 1015-1028.
145. Wathes C. D. Reynolds S. T. Robinson S. R. and Stevenson R. K. Role of the insulin-like growth factor system in uterine function and placental development in ruminants. J. Dairy Sci. 1998a; 81: 1778-1789.
146. Wathes C. D. Robinson S. R. Mann E. G. and Lamming E. G. The establishment of early pregnancy in cows. Reprod. Dom. Anim. 1998b; 33: 279-284.
147. Watson A. J., Hogan A., Hahnel A., Wiemer H. E., Schultz G. A. Expression of growth factor ligand the receptor genes in the preimplantation bovine embryo. Mol. Reprod. Dev. 1992; 31: 87-95.
148. Webb R., Campbell K. B. , Garverick A. H., Gong G. J. Gutiérrez G. C. and Armstrong G. D. Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. J. Reprod. Fertil. 1999; Suppl. 54: 33-48.
149. Webb R. and Armstrong G. D. Control of ovarian function; effect of local interactions and enviromental influences on follicular turnover in cattle: a review. Livestock production science. 1998; 53: 95-112.

150. Webb R., Gong G. J. and Bramley A. T. Role of growth hormone and intrafollicular peptides in follicle development in cattle. Theriogenology. 1994; 41: 25-30.
151. Winger A. Q., de los Ríos P., Han M. K., Armstrong T. D., Hill J. D. and Watson J. A. Bovine oviductal and embryonic insulin-like growth factor binding proteins: Possible regulators of "Embryotrophic" insulin-like growth factor circuits. Biol. Reprod. 1997; 56: 1415-1423.
152. Younis J. S. Simon A., Jorne R., Dorembus D., Schenker Y. and Laufer N. The effect of growth hormone supplementation on in vitro fertilization outcome: a prospective randomized placebo-controlled double. Blind study. Fertil. Steril. 1992; 58:575-580.
153. Yuan W., Bao B., Garverick A. H., Youngquist S. R. and Lucy C. M. Follicular dominance in cattle is associated with divergent patterns of ovarian gene expression for insulin-like growth factor (IGF-I), IGF-II and IGF binding protein -2 in dominant and subordinate follicles. Dom. Anim. Endocr. 1998; 15: 55-63.
154. Zavy M. T. Embryonic mortality in cattle. In: Zavy M. T. And Geisert R. D. Editors. Embryonic mortality in domestic species. Boca Raton: CRC Press, 1994; 99-140.