



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**MAESTRIA EN CIENCIAS
DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**DIFERENTES ESQUEMAS DE APLICACIÓN DE PROGESTERONA COMO
PARTE DE UN PROTOCOLO LACTOINDUCTOR Y SUS EFECTOS EN LA
PRODUCCIÓN DE VACAS HOLSTEIN.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A

KARLA RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ

TUTOR: ALEJANDRO VILLA GODOY

COMITÉ TUTORAL: EVERARDO GONZÁLEZ PADILLA

FELIPE DE JESÚS RUIZ LÓPEZ

MÉXICO, D.F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DEDICATORIAS

*A Dios, por que en su infinita misericordia me dio la oportunidad de seguir
viviendo, estar sana y completa para alcanzar uno de mis grandes sueños, gracias
Papito.*

A mis padres, Silvia y Carlos, porque son los pilares de mi vida.

A mi abuelita Queta, por su amor y fortaleza.

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor, Dr. Alejandro Villa Godoy, por su confianza, por ser como un padre para mí, tanto en lo académico como en lo emocional.

Al CONACYT, por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

Al Proyecto DGAPA-UNAM PAPIIT IN228003, por los fondos otorgados para la realización del presente trabajo de investigación.

Al Dr. Everardo González Padilla, por su apoyo y enseñanzas durante toda mi maestría, como profesor y parte de mi comité tutorial.

Al Dr. Felipe Ruiz López, por su confianza y paciencia durante el desarrollo de mi tesis de maestría.

Al Dr. Roberto Ruiz Díaz, por sus enseñanzas y preocupación durante la realización del trabajo experimental.

A los miembros de mi jurado, Dr. Héctor Vera Ávila y Dr. Joel Hernández Cerón, por sus enseñanzas y comentarios, tanto en la revisión de esta tesis como durante la realización de mi maestría.

Al Dr. José Soledad, quien ayudó a la realización de los estudios preliminares parte de esta tesis.

A la Dra. Clara Murcia, por ayudarme a la realización del RIA y por su amistad.

A la Dra. Alejandra Ayanegui y el Dr. Ignacio Lizárraga, mil gracias por preocuparse tanto por mí y por su amistad.

A mis grandes amigos Adrianita, Marce, Ivette, Manolo y Mamá Paula, por sus enseñanzas, preocupación y su cariño.

A mis compañeros y amigos de la maestría **Elfego y Mary**, por su apoyo y ayuda en la realización de mi proyecto.

A mi familia, por su amor incondicional y apoyo para la realización de mi posgrado.

A Horacio, mi esposo, por estar conmigo en las buenas y en las difíciles.

A todos los que de una u otra manera me apoyaron, mil gracias.

DECLARACIÓN

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

Karla Rodríguez Hernández

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS	I
RESUMEN	VII
ABSTRACT	IX
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	6
Introducción	6
Desarrollo de la glándula mamaria	6
<i>Desarrollo mamario prepuberal</i>	6
Mecanismos que regulan la mamogénesis prepuberal	7
<i>Desarrollo mamario puberal</i>	9
Mecanismos que regulan la mamogénesis puberal	10
<i>Desarrollo mamario durante la gestación</i>	11
Regulación de la mamogénesis durante la gestación	11
Lactogénesis	14
Regulación de la lactogénesis	15
Métodos de inducción a la lactación	16
<i>Efectos de los tratamientos lactoinductores en la producción de leche</i>	16
<i>Efecto de los tratamientos lactoinductores en la reproducción</i>	20
CIDR	21
HIPÓTESIS	23
OBJETIVO	23
MATERIAL Y MÉTODOS	24
<i>Animales y manejo general</i>	24
<i>Tratamientos</i>	24
<i>Muestras y mediciones</i>	25
<i>Variables de respuesta</i>	28
<i>Análisis estadístico</i>	32
RESULTADOS	33
<i>Tasa de desecho</i>	33
<i>Crecimiento de la ubre</i>	33
<i>Producción de leche</i>	33
<i>Progesterona</i>	34
<i>Desempeño reproductivo</i>	35
DISCUSIÓN	63
CONCLUSIONES	73
IMPLICACIONES	73
BIBLIOGRAFÍA	74

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

	Pág.
Cuadro 1. Costos de los productos hormonales empleados en el tratamiento lactoinductor desarrollado por Isidro <i>et al.</i> , 2001.	3
Cuadro 2. Causas de eliminación durante el periodo de 210 días de lactación de vacas y vaquillas Holstein lactoinducidas. Las variantes del tratamiento fueron inyecciones diarias IM de P4 por 7 días (INyec), P4 en CIDR que se mantuvo <i>in situ</i> por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR).	36
Cuadro 3. Análisis de varianza para el incremento del largo y ancho de vacas y vaquillas Holstein inducidas a lactar con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR).	38
Cuadro 4. Análisis de varianza para la media de producción de leche (kg/día/animal) al día 210 de la lactación de vacas y vaquillas Holstein, durante una lactación natural (LN) o inducida con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR).	40
Cuadro 5. Análisis de varianza para mediciones repetidas para la producción de leche (kg/día/animal) de vacas y vaquillas Holstein durante una lactación natural (LN) o inducida con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR).	42
Cuadro 6. Análisis de varianza para la media de producción máxima de leche	44

(kg/animal) durante 210 días de lactación de vacas y vaquillas Holstein, durante una lactación natural (LN) o inducida con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR)

Cuadro 7. Análisis de varianza para la media del día de producción máxima de leche, durante 210 días de lactación de vacas y vaquillas Holstein, durante una lactación natural (LN) o inducida con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR). **47**

Cuadro 8. Análisis de covarianza para la producción de leche total (kg/animal) de vacas y vaquillas Holstein de lactación natural (LN) o inducida con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR). **49**

Cuadro 9. Análisis de covarianza para la producción de leche total (kg/animal) de vacas y vaquillas Holstein inducidas a lactar con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR) y su lactación previa natural (LPRE). **51**

Cuadro 10. Análisis de varianza para la media de concentraciones de progesterona sérica (ng/ml) durante los días 5,10 y 15 del tratamiento de vacas y vaquillas Holstein inducidas con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR). **53**

Cuadro 11. Análisis de varianza para mediciones repetidas para la concentración **55**

de progesterona sérica (ng/ml) de vacas y vaquillas Holstein inducidas a lactar con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR).

Cuadro 12. Análisis de varianza para la duración de la conducta de tipo estral (DEC) de vacas y vaquillas Holstein inducidas a lactar con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR). **57**

Cuadro 13. Análisis de varianza para los días abiertos (DA) de vacas y vaquillas Holstein de lactación natural (LN) o inducida con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR). **61**

Cuadro 14. Comparación de costos de los productos hormonales empleados en un tratamiento lactoinductor. Las variantes en el tratamiento fueron progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR). **62**

Figura 1. Esquemas de aplicación de hormonas durante los tratamientos lactoinductores (INyec, 1CIDR y 2CIDR). **27**

Figura 2. Sitios de medición para el cálculo de los cambios del tamaño de la ubre. **28**

Figura 3. Efecto de un tratamiento lactoinductor en el incremento en el largo (L) y ancho (A) de la ubre de vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INyec), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días **37**

(2CIDR).

Figura 4. Efecto de un tratamiento lactoinductor sobre la producción de leche 39
diaria al día 210 de lactación en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el
tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INyec), P4 en CIDR que
se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días
(2CIDR).

Figura 5. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la producción de leche 41
durante 210 días de lactación en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el
tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INyec), P4 en CIDR que
se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) ó en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días
(2CIDR).

Figura 6. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la producción de leche 43
máxima durante 210 días de lactación en vacas y vaquillas Holstein. Las
variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INyec),
P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez
durante 14 días (2CIDR).

Figura 7. Efecto de un tratamiento lactoinductor en el día de máxima producción 45
de leche durante 210 días de lactación en vacas y vaquillas Holstein. Las
variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INyec),
P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez
durante 14 días (2CIDR).

Figura 8. Efecto de vaca o vaquilla en la media del día de máxima producción de 46
leche durante 210 días de lactación de vacas y vaquillas de lactación natural e
inducidas a lactar, cuyas variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de
P4 por 7 días (INyec), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o
en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR).

Figura 9. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la producción de leche total 48
en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección

diaria IM de P4 por 7 días (INyec), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR).

Figura 10. Comparación de la producción de leche total en vacas y vaquillas Holstein lactoinducidas, con la producción de leche total de su lactación previa (LPRE). Las variantes en el tratamiento lactoinductor fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INyec), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR). **50**

Figura 11. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la concentración de P4 en suero durante los muestreos de los días 5, 10 y 15 del tratamiento en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento lactoinductor fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INyec), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR). **52**

Figura 12. Efecto de un tratamiento lactoinductor en las concentraciones de P4 sérica durante la aplicación del protocolo lactoinductor y los primeros 34 días de la lactación en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INyec), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR). **54**

Figura 13. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la duración de la conducta de tipo estral en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INyec), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR). **56**

Figura 14. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la tasa de servicios por concepción en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INyec), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR). **58**

Figura 15. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la tasa de gestación en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INyec), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días **59**

(1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR).

Figura 16. Efecto de un tratamiento lactoinductor en los días abiertos en vacas y **60**
vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de
P4 por 7 días (INyec), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o
en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR).

INTRODUCCIÓN

La eficiencia de las empresas lecheras es afectada por varios factores, entre los que se encuentran los relacionados con la eliminación de animales del hato o desecho. El desecho se ha clasificado en dos tipos: voluntario y no voluntario, de acuerdo a la causa que lo origina; en el desecho voluntario se eliminan vacas por baja producción de leche, en cambio en el desecho no voluntario las causas de eliminación son enfermedades y problemas reproductivos (Vitela *et al.*, 2004; Radke, 2000).

Se ha informado que en los hatos lecheros de los Estados Unidos, el promedio de desechos puede llegar a ser de hasta un 34%, del cual los problemas reproductivos son la principal razón con un 20% (Vaughn y Vaughn, 1998).

En otro estudio en establos de la cuenca lechera de Lima, Perú, Orrego *et al.* (2003), hallaron que el 52.8% de las causas de desecho fueron debidas a problemas reproductivos.

En México, existen evidencias de que el porcentaje de desechos por infertilidad, es por lo menos similar al de los hatos norteamericanos, o quizás mas alto en los establos de las cuencas lecheras del país, donde se han documentado tasas de eliminación por causas reproductivas superiores al 30% (LALA, 2000). Vitela *et al.* (2004) analizaron los registros de 5 establos lecheros de la cuenca lechera de Aguascalientes, en los que la tasa promedio de desecho debido a problemas reproductivos fue el 34.7% de la tasa total de desecho que fue de 22.2%.

La problemática del desecho por problemas reproductivos, se agrava debido a los altos costos previos al desecho, como son el elevado número de inseminaciones adicionales, asesoría por veterinarios, la compra de productos hormonales, fármacos y las pérdidas ocasionadas por reducción en la producción de leche (Ferris *et al.*, 1984; Boichard, 1990). Entre las herramientas que se han desarrollado para amortiguar este problema, se encuentra la inducción hormonal a la lactación, la cual puede ser aplicada en animales de desecho que se encuentren sanos (Crooker *et al.*, 2004) y que al momento del secado

permanezcan sin gestar, esto, con el propósito de hacerlos producir una lactación más antes de que sean eliminados del hato y vendidos al rastro a bajo precio (Espinosa, 2005).

Los primeros intentos de inducción de la lactación por medios hormonales datan desde antes de la década de los años 50, cuando se documentó sobre las acciones de los estrógenos combinados con la progesterona en el desarrollo de la glándula mamaria (Turner, 1934; Mixner y Turner, 1943), y fue hasta 1973, que Smith y Schanbacher, mediante un protocolo que incluyó estradiol 17 β y progesterona aplicados durante un periodo de 7 días, lograron inducir la lactación en vacas no gestantes con una media de producción de 16 kg de leche al día; posteriormente, basados en este protocolo se incluyó la administración de dexametasona, un promotor de la liberación de prolactina y/o lactógeno placentario, en los que las lactaciones obtenidas se caracterizaron por ser de baja producción con relación a las lactancias naturales (12 al 72%) (Collier *et al.*, 1976; Collier *et al.*, 1977; McFadden *et al.*, 1995; Byatt *et al.*, 1997; Kann *et al.*, 1998).

En México, Isidro *et al* (2001) desarrollaron un protocolo lactoinductor en el que se administró somatotropina bovina SC los días 1, 7, 14, 21 del tratamiento; cipionato de estradiol IM (30 mg/vaca/día) y progesterona inyectada (375 mg/vaca/día) del día 1 al 7, del día 8 al 14 se aplicó cipionato de estradiol IM (15 mg/día/vaca), los días 15 al 17 no se aplicó nada, y los días 18 al 20 se administró IM 2.5mg/día/vaca de flumetasona, la ordeña inició en el día; con el que se logró el 100% de respuesta en los animales tratados, el 93% de la producción láctea con respecto a la lactación previa y una media de duración de la lactación de 290 días; posteriormente, otros autores evaluaron el mismo protocolo (Espinosa, 2005; Yáñez, 2006), obteniendo de nuevo el 100% de respuesta, el 72% de la producción láctea con respecto a la de vacas de lactación natural (LN) y aproximadamente del 43 al 47% de los animales lactoinducidos quedó gestante.

Uno de los aspectos relevantes de los tres últimos trabajos aquí mencionados, es que con la adición de un periodo de 7 días más de aplicaciones de estradiol y la aplicación de somatotropina bovina durante la lactoinducción, se trató de simular

con mayor precisión las variaciones de estradiol, progesterona, cortisol y hormona del crecimiento, ocurridas durante los últimos 20 días de gestación (Espinosa, 2005), sin embargo, en vacas gestantes la disminución de las concentraciones de progesterona en el suero ocurre hasta el día 5 previo al parto (Terblanche *et al.*, 1980; Ishikawa, 2004).

Aún así, queda margen para mejorar los resultados hasta ahora obtenidos, ya que los puntos débiles de este tratamiento inductor son: 1) Manejo intenso, 2) Costo elevado (**Cuadro 1**), 3) Celo persistente (o intermitente por al menos los primeros 29 días de la lactación), 4) Elevadas concentraciones de estradiol en suero durante los primeros 14 días de la lactación, 5) Pico de lactación poco prominente, y 6) disminución de las concentraciones de progesterona sérica 10 días antes del inicio del ordeño (Espinosa, 2005; Valdez, 2006; Yáñez, 2006).

Cuadro 1. Costos de los productos hormonales empleados en el tratamiento lactoinductor desarrollado por Isidro *et al.*, 2001.

Hormona	Costo
Progesterona	\$294.00
Cipionato de estradiol	\$921.38
Flumetasona	\$35.10
Somatotropina bovina	\$236.00
Total/vaca	\$1486.48

1. Precios para ganaderos.

2. Precios actualizados al 27 de septiembre de 2006.

Por lo anterior, con el objetivo de disminuir el manejo de los animales y el costo del protocolo, se diseñaron 2 estudios preliminares.

Estudio 1. Disminución del número de aplicaciones de estradiol

Puesto que en la literatura solo existe un trabajo en el que con la administración de estradiol durante 7 días, se indujeron lactaciones adecuadas en vacas lecheras

y ese trabajo tiene como efecto confundido la aplicación de un promotor de la liberación de prolactina y de somatotropina bovina recombinante (Jewell, 2003); se consideró conveniente producir evidencias de que en comparación con 14 días de aplicación de estradiol, 7 días son suficientes para inducir una lactogénesis adecuada. Para ello se utilizaron 10 vacas Holstein de desecho por problemas múltiples, 5 en cada tratamiento (INyec e INyec1). El protocolo inductor de la lactancia para el tratamiento INyec fue idéntico al de Isidro *et al.* (2001). En el tratamiento INyec1, el protocolo de inducción fue igual al tratamiento INyec, sólo difiriendo en que del día 8 al 14 no se aplicó cipionato de estradiol. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con medidas repetidas, para el análisis de varianza se usó el procedimiento GLM de SAS. La media de la producción de leche/día/vaca hasta el día 55 de la lactación de los animales tratados con INyec1 (9.56 ± 0.34 e.e.) fue menor ($P < 0.0001$) a la media de las vacas de INyec (14.64 ± 0.28 e.e.). Los resultados obtenidos en este estudio permiten sugerir que 7 aplicaciones de cipionato de estradiol, no son suficientes para inducir una lactogénesis adecuada.

Estudio 2. Aplicación de un CIDR en lugar de las inyecciones de progesterona

Ante la ausencia de información referente a los posibles efectos de la cantidad de progesterona (P4) que es liberada por el CIDR sobre las funciones mamarias, se diseñó un estudio para generar evidencias que permitieran determinar el papel potencial de los citados dispositivos como parte de un tratamiento inductor de la lactación. El estudio consistió de dos tratamientos, cada uno con cinco vacas: a) INyec (igual al del estudio preliminar 1), y b) CIDR, en el que la administración de P4 se realizó mediante un dispositivo intravaginal (1.9 gr de progesterona en total). Éste se insertó el día 1 y se retiró el día 8.

Se utilizó un diseño completamente al azar para dos tratamientos, con mediciones repetidas. Para el análisis de varianza se usó el PROC GLM (SAS Institute Inc., 2001). La media de la producción de leche/día/vaca durante 55 días de lactación del tratamiento INyec (9.60 ± 0.48 e.e.) fue menor ($P < 0.0001$) a la media del

tratamiento CIDR (11.76 ± 0.47 e.e.). Los resultados obtenidos en este estudio permitieron sugerir que la utilización de un CIDR en lugar de las inyecciones de progesterona puede ser viable.

Con base en los resultados del estudio preliminar 2, el objetivo primordial del presente trabajo fue evaluar la aplicación de un CIDR por 7 días o dos CIDR aplicados por separado por 7 días cada uno como fuente de progesterona dentro de un protocolo lactoinductor, sus efectos en la producción y reproducción de vacas y vaquillas lecheras candidatas al desecho.

RESUMEN

DIFERENTES ESQUEMAS DE APLICACIÓN DE PROGESTERONA COMO PARTE DE UN PROTOCOLO LACTOINDUCTOR Y SUS EFECTOS EN LA PRODUCCIÓN DE VACAS HOLSTEIN (RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ KARLA).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de progesterona (P4) mediante un CIDR, o dos CIDR consecutivos, como parte de un protocolo lactoinductor en vacas y vaquillas destinadas al desecho por problemas reproductivos, sobre las concentraciones sanguíneas de P4 (CP4), la producción láctea y el desempeño reproductivo. Se usaron 15 vacas y 15 vaquillas Holstein candidatas al desecho y como testigo absoluto 11 vacas y 4 vaquillas Holstein, cuyo parto natural (LN) coincidió con el periodo de inicio de la lactación de los animales lactoinducidos. Se contó con tres tratamientos lactoinductores, cada uno con 5 vacas y 5 vaquillas: a) INYEC: administración SC de STb-zinc 500mg/vaca los días 1, 7, 14 y 21 + 30mg/vaca/día de cipionato de estradiol (CE) junto con 375mg/día/vaca de P4, ambos IM del día 1 al 7 + 15mg/vaca/día de CE IM del día 8 al 14; los días 18 al 20 flumetasona IM 2.5mg/día/vaca. La ordeña inició el día 21; b) 1CIDR, similar al anterior, pero se aplicó un CIDR del día 1 al 8; c) 2CIDR, similar al anterior, pero se aplicó un segundo CIDR del día 8 al 15. Se registró la producción láctea por vaca/día una vez al mes durante 7 meses (PLDIA). La PLDIA y la producción de leche total (PLTOT) de los animales de INYEC, 1CIDR y 2CIDR no fue diferente; PLDIA y PLTOT de 1CIDR fue similar a la de LN. Las CP4 no fueron diferentes entre 1CIDR y 2CIDR, pero si menores a las de INYEC. La tasa de servicios por concepción entre INYEC, 1CIDR y LN no fue diferente; 1CIDR y 2CIDR fueron similares, pero este último fue mayor a INYEC y LN. No se detectaron diferencias entre los animales de INYEC, 1CIDR y LN para la tasa de gestación, siendo menor la de 2CIDR que la de INYEC y LN. No hubo diferencia en días abiertos entre INYEC, 1CIDR y LN, siendo menor en los tres casos que la de 2CIDR. No se detectaron diferencias para la tasa de servicios por concepción entre los animales de los cuatro tratamientos. Los resultados indican que un CIDR puede sustituir las inyecciones IM de P4, sin afectar la

producción láctea y el desempeño reproductivo.

Palabras clave: bovinos, lactoinducción, CIDR, progesterona.

ABSTRACT

EFFECTS OF DIFFERENT APPLICATION SCHEMES OF PROGESTERONE ON PRODUCTIVE PERFORMANCE OF LACTOINDUCED HOLSTEIN COWS (RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ KARLA).

This study was conducted to determine effects of progesterone applied by one or two consecutive CIDR as substitute of progesterone (P4) injection during a protocol for lactoinduction, on serum progesterone concentration (CP4), milk production and reproductive performance in Holstein dairy cows and heifers candidates for culling due to reproductive reason. An absolute control group of natural lactation (LN) cows (n=11) and heifers (n=4) were used, besides 15 cows and 15 heifers that were lactoinduced by 3 different treatments (5 cows and 5 heifers per group). Treatments were: a) INYEC (positive control), subcutaneous application of bST-zinc 500mg/cow on days 1, 7, 14 and 21; 30mg/animal/day of estradiol cypionate (CE) + 375mg/animal/day of progesterone, both by intramuscular injection on days 1 to 7 + CE 15mg/cow/day on days 8 to 14; the days 18 to 20 a flumetasone injection (2.5mg/cow/day) was applied, milking began on day 21. b) 1CIDR, like the last but the treated cows and heifers received one CIDR from days 1 to 8, c) 2CIDR, was like the last but the animals received one second CIDR from days 8 to 15. One day by month the milk production cow/day was taken to the day 210 of the lactation (PLDIA). For CP4 and PLDIA, was used a split plot design for repeated measures. The PROC GLM was used for the variance analyses. The PLDIA for INYEC, 1CIDR and 2CIDR was not different; the mean of PLDIA to day 210 in milk for 1CIDR was similar to LN. For total milk production no differences were found between INYEC, 1CIDR and 2 CIDR, and 1CIDR was similar to LN. When the CP4 was compared between lactoinduction treatments no difference was found between 1CIDR and 2CIDR, but the both were lower than INYEC. The number of services to conception was no different in all cases. The pregnancy percentage between INYEC, 1CIDR and LN were no different, and too no differences were detected between 1CIDR and 2CIDR, but the last was lower than INYEC and LN. The days open between INYEC, 1CIDR and LN

were no different, both the both were lower than 2CIDR. The results suggest that use of one CIDR can substitute the progesterone application by intramuscular injections without affect the milk production.

Key words: bovine, lactoinduction, CIDR, progesterone.

REVISIÓN DE LITERATURA

Introducción

Debido a la creciente investigación sobre los mecanismos hormonales que regulan el desarrollo de la glándula mamaria, los métodos para lactoinducir vacas lecheras se han ido modificando, y con esto los resultados obtenidos cada vez son más prometedores; sin embargo, dado que la mayoría de los conocimientos que se tienen sobre el mecanismo de acción de las hormonas aplicadas durante los protocolos lactoinductores, han sido generados en ratonas, aún quedan muchas interrogantes sobre sus efectos en la glándula mamaria, su desarrollo, producción de leche y en la reproducción de vacas lactoinducidas.

Como parte del desarrollo de las técnicas de inducción hormonal a la lactación en vacas lecheras, el tema central de la presente tesis generará información, sobre cómo la aplicación de progesterona mediante un dispositivo intravaginal de liberación (CIDR) como parte de un protocolo lactoinductor, puede afectar la respuesta productiva y reproductiva de los animales tratados.

Por lo anterior, en este capítulo se hará mención de los conocimientos existentes en bovinos, sobre la regulación del desarrollo de la glándula mamaria durante diferentes etapas fisiológicas, los diferentes métodos empleados para inducir a la lactación y las características principales del CIDR.

Desarrollo de la glándula mamaria

El término usado para referirse al desarrollo de las estructuras de la glándula mamaria es **mamogénesis** (Hurley, 2003) y es un fenómeno que se inicia en la etapa fetal de los mamíferos (Svennersten-Sjauja y Olsson, 2005). La mamogénesis, ocurre en cinco etapas de la vida: fetal, prepuberal, puberal, gestacional y lactacional (Hurley, 2003).

Desarrollo mamario prepuberal

El desarrollo prepuberal se lleva a cabo durante dos fases: pre- y posnatal; para fines de esta revisión, sólo se discutirá el desarrollo extrauterino en hembras bovinas.

Durante los primeros 2 ó 3 meses después del nacimiento, el crecimiento mamario es isométrico. En esta etapa, el sistema de ductos se alarga poco y el incremento en el tamaño de la ubre se debe principalmente, al crecimiento continuo del estroma (Sejrsen, 1994).

En becerras prepúberes, los ductos se desarrollan dentro del tejido conectivo laxo, formando estructuras compactas que tienen un gran número de ramificaciones; la elongación de los ductos se encuentra dada por el crecimiento coordinado, ramificación y extensión de las unidades ducto terminales (UDT). La UDT, en su base consiste en cordones de células epiteliales de apariencia sólida que penetran dentro del estroma mamario (EST); estos cordones en su porción más distal se encuentran rodeados por 5 a 10 ramificaciones o dúctulos. Cada uno de los cordones epiteliales contiene entre 4 y 8 capas de células; la capa basal se encuentra poblada por células indiferenciadas y probablemente, células precursoras de células mioepiteliales. La mayoría de las células basales, expresan citoqueratina y cadena α de actina de músculo liso, lo que les permite formar estratos con 1 a 3 capas de células, sin embargo, también se pueden observar células basales que se extienden desde la membrana basal hasta la línea media del dúctulo (Capuco *et al.*, 2005).

Después de los 2 ó 3 meses de edad, la glándula mamaria comienza a crecer de forma alométrica; en becerras, esto incluye un rápido crecimiento y desarrollo extensivo de la red de ductos y del EST; posteriormente, el crecimiento alométrico de la glándula mamaria es lineal hasta el noveno mes de edad (Sinha *et al.*, 1968; Sejrsen, 1994; Hurley, 2003).

Mecanismos que regulan la mamogénesis prepuberal

La regulación hormonal de la mamogénesis es diferente entre cada etapa, sin embargo, algunas hormonas y péptidos se involucran en más de una. Por lo anterior, para fines de esta revisión, sólo se mencionará el mecanismo de acción de cada hormona y/o péptido la primera vez que intervenga, y posteriormente, sólo se hará mención de ella.

El crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria durante esta etapa, se encuentra controlado por las acciones combinadas de los estrógenos (E), la hormona del crecimiento (GH) y factores de crecimiento, entre los que sobresale, el factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF-I) (Berry *et al.*, 2003a).

En el parénquima mamario (PAR), las células epiteliales (CE) que se multiplican, son las que carecen de receptores para E (RE-), por lo que en la glándula mamaria, los E promueven la proliferación celular de manera indirecta, en al menos 2 maneras: 1) los E se unen a las CE RE+, estimulando la multiplicación de las CE RE- adyacentes, mediante el IGF-I; y 2) en el EST, los E se unen a los fibroblastos y adipocitos RE+, provocando la proliferación de las CE RE- cercanas, también por la mediación del IGF-I (Ellis *et al.*, 2000; Berry *et al.*, 2003a; Berry *et al.*, 2003b; Connor *et al.*, 2005; Meyer *et al.*, 2006a; Connor *et al.*, 2007).

Aunque durante esta etapa, en el EST, los E también causan la multiplicación de los fibroblastos mediante factores de crecimiento liberados por las CE ER+ vecinas (Woodward *et al.*, 1993; Connor *et al.*, 2007), se ha observado que la respuesta proliferativa a los E, es mayor en el PAR que en el EST (Connor *et al.*, 2007).

Por otra parte, la GH ejerce su efecto mitogénico en el epitelio del PAR, al aumentar la síntesis del IGF-I sistémico producido por el hígado (Purup *et al.*, 1995; Sejrnsen *et al.*, 1999; Akers *et al.*, 2000a; Berry *et al.*, 2001; Hovey *et al.*, 2002; Berry *et al.*, 2003a). La acción de la GH sobre la proliferación del PAR, se encuentra mediada por los E, no así en el EST, donde la GH promueve la proliferación celular sin necesidad de E (Purup *et al.*, 1993).

Otro de los factores de crecimiento involucrado en la mamogénesis prepuberal, es el factor transformador de crecimiento $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), el cual promueve la proliferación celular y la ramificación de los ductos (Ellis *et al.*, 2000).

La nutrición, es otro de los factores que regula el crecimiento de la glándula mamaria durante la etapa prepuberal. El exceso de energía en la dieta, produce un incremento en la masa del estroma, retención de lípidos e hipertrofia de los adipocitos que lo conforman (Meyer *et al.*, 2006a). Aunado a lo anterior, se ha

observado que en las becerras que tienen ganancias diarias de peso promedio, mayores a 700 g/día, se reducen los niveles de GH en plasma y se aumenta la concentración de IGFBP-3 (la proteína ligadora tipo 3 de IGF), lo que conlleva a una disminución de la proliferación de las CE y por lo tanto, una menor cantidad de PAR, provocando un efecto negativo en la vida productiva del animal; se ha estimado que después de los 700 g/día de GDP, por cada incremento de 100 g de GDP, los animales producen 1.5 kg menos de leche por día (Sejrsen *et al.*, 2000, Weber *et al.*, 2000; Meyer *et al.*, 2006c).

Desarrollo mamario puberal

En vaquillas Holstein, la fase de crecimiento alométrico del tejido mamario termina cuando alcanzan entre 250 y 300 kg de peso, regresando a una fase de crecimiento isométrico (Meyer *et al.*, 2006c), lo que coincide con el rango de peso (250-280 kg) en el que inicia la pubertad (entre los 8 y 12 meses de edad) (Sejrsen, 1994; Meyer *et al.*, 2006c).

Durante esta etapa, el sistema ductal continúa creciendo e inicia su ramificación, formando ductulos. Cada ductulo termina en lóbulos, cada uno constituido por varios lobulillos los cuales se encuentran rodeados por tejido conectivo, dando lugar a estructuras parecidas a un racimo de uvas al final de su tallo y que son conocidas como unidades terminales ductulo-lobulares (UTDL). La UTDL, conforma la unidad funcional del tejido parenquimatoso (Hurley, 2003). En rumiantes, las UTDL son los sitios con mayor grado de proliferación celular durante la etapa prepuberal (Ellis, 1998; Berry *et al.*, 2003a) y son lo equivalente a lo que en ratones se conoce como botón terminal, una estructura en forma de bulbo o saco (Hovey, 2002).

Aunque durante esta etapa, ya es distinguible una organización lobular del tejido del PAR, es hasta la gestación, donde se desarrolla totalmente (Hurley, 2003).

Después del inicio de la pubertad, la mamogénesis se da de manera episódica durante cada ciclo estral, existiendo un periodo de crecimiento súbito de los ductos en las fases de proestro y estro, y un periodo de regresión incompleta durante el metaestro y el diestro (Hovey *et al.*, 2002; Hurley, 2003). Es por lo anterior, que en

las vaquillas hasta los 30 meses de edad, se observa un crecimiento lineal de la glándula mamaria, con incrementos mensuales del peso de la ubre de aproximadamente 270 g (Hurley, 2003).

Mecanismos que regulan la mamogénesis puberal

Desde el inicio de la pubertad y hasta la primera concepción, el crecimiento de la glándula mamaria se encuentra regulado principalmente, por los cambios en las concentraciones de E y P4 que se producen en cada ciclo estral, sin embargo, también existe regulación por parte de la GH y factores de crecimiento, entre los que sobresalen el IGF-I, el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y el factor de crecimiento de queratinocitos (KGF) (Hurley, 2003).

Se ha observado, que al igual que las CE RE-, sólo las CE RP4- se multiplican. En ratonas, la P4 ocasiona que las CE se multipliquen, causando que los ductos aumenten de diámetro y los ductulos se alarguen (Haslam *et al.*, 1980; Silberstein *et al.*, 1996; Brisken *et al.*, 2000; Lydon *et al.*, 2000; Hurley, 2003; Connor *et al.*, 2005; Connor *et al.*, 2007); sin embargo, en rumiantes, el cómo la P4 promueve la proliferación celular durante la mamogénesis puberal y gestacional, aún no ha sido totalmente esclarecido.

Connor *et al* (2007), proponen que en rumiantes, la P4 al unirse a las CE RP4+, estimula la multiplicación celular mediante: 1) la liberación del Wnt-4, el cual hace que las CE PR4- contiguas se multipliquen; y 2) la liberación de FC que actúan sobre las células del EST, promoviendo que estas a su vez liberen FGF y otros FC que también, estimulan la proliferación del PAR.

En vaquillas y borregas, la P4, también estimula la mitosis de las CE P4-, mediante la acción del KGF producido por los adipocitos y fibroblastos del EST que poseen RP4, favoreciendo la ramificación ductal (Hovey *et al.*, 2001).

En el PAR de vaquillas de 18 meses de edad, el FGF interviene en la proliferación de las CE, promoviendo la elongación y ramificación ductal (Plath *et al.*, 1998; Akers *et al.*, 2006).

Se ha observado una correlación positiva entre el crecimiento mamario durante la pubertad y los niveles hipofisarios de prolactina (PRL), aunque no existe evidencia

directa de que la PRL regule la proliferación o la morfogénesis ductal en rumiantes durante esta etapa (Hovey *et al.*, 2002).

Desarrollo mamario durante la gestación

La gestación es el periodo de mayor crecimiento de la glándula mamaria, y es en la fase final de esta, que la mamogénesis se acelera (Tucker, 1987; Knight *et al.*, 1993; Hurley, 2003). Durante la primera mitad de la gestación, hay un desarrollo extenso de los ductos y lóbulos; posteriormente a partir de la segunda mitad de la gestación, si bien el crecimiento ductal continúa, se inicia el desarrollo de las UTDL para formar grupos de alvéolos, los cuales se desarrollan por la proliferación extensiva y diferenciación de las células que se encuentran en la parte distal terminal de los ductos, dando origen a lo que se conoce como unidades lóbulo-alveolares, las cuales se expanden y ramifican de manera profusa (Hurley, 2003; Capuco *et al.*, 2005).

La diferenciación citológica y enzimática de las células epiteliales que conforman los alvéolos (alveolitos), inicia durante el último tercio de la gestación (lactogénesis I) y la secreción profusa de leche, usualmente empieza entre 1 a 4 días antes y 1 a 3 días después del parto, prolongándose hasta el pico de la lactación (lactogénesis II) (Tucker, 1979; Tucker, 1994).

Los alveolitos sólo se desarrollan durante la gestación, por lo que, en este periodo se determina el número máximo de alveolitos que habrá en la glándula lactante y el nivel de producción de leche subsiguiente (Tucker, 1994; Hurley, 2003).

Regulación de la mamogénesis durante la gestación

Durante la gestación, la proliferación y diferenciación del tejido epitelial mamario depende de las acciones combinadas de la P4, E, GH, PRL, cortisol y FC (Tucker, 1984; Sinowats *et al.*, 2000).

Durante la primera mitad de la gestación las concentraciones de P4 en suero aumentan hasta 8 ng/ml, a partir del 5° mes y hasta los 20 a 10 días antes del parto, sus concentraciones disminuyen de manera paulatina hasta alcanzar niveles cercanos a los 4 ng/ml, finalmente, se observa una reducción rápida en su concentración durante los últimos tres días de la gestación (<1 ng/ml) (Stabenfeldt

et al., 1970; Terblanche *et al.*, 1981; Ishikawa *et al.*, 2004); en cambio, la concentración de E aumenta de manera paulatina a partir de la segunda mitad de la gestación (0.01 ng/ml, entre los días 110 y 120), incrementándose de manera acelerada durante los últimos 25 días, alcanzando concentraciones de hasta 1 ng/ml de suero, un día antes del parto (Tucker, 1994; Hoffmann *et al.*, 1997; Hurley, 2003; Shah *et al.*, 2006).

La información referente a los efectos de la P4 durante la primera mitad de la gestación, sobre el crecimiento de la glándula mamaria de vacas es muy escasa; desde 1934, se sugirió que la P4, sólo se involucraba en el desarrollo del sistema lóbulo alveolar mediante su acción sinérgica con los E (Turner, 1934; Mixner y Turner, 1943; Turner, 1959; Croom *et al.*, 1976). En rumiantes, la expresión de RP4 en el PAR y EST de la glándula mamaria durante la gestación es mayor durante la primera parte, y posteriormente disminuye hasta no ser detectada después del parto (Schams *et al.*, 2003; Connor *et al.*, 2005). En ratonas se ha observado lo mismo (Aupperlee *et al.*, 2005), por lo que es posible, que el efecto de la P4 sobre la mamogénesis durante la gestación sea similar entre vacas y ratonas.

Al igual que durante la etapa de mamogénesis puberal, se ha observado que durante la gestación de vacas, ratonas y mujeres, las CE que se multiplican carecen de receptores para E o P4 (Clarke *et al.*, 1997; Lydon *et al.* 2000; Connor *et al.*, 2007). En tejido mamario normal de mujeres, Clarke *et al.* (1997), observaron que el 96% de las células que expresaban RE, expresan también RP4, y que la cantidad necesaria de E, para promover la expresión de RP4 es menor a la requerida para causar proliferación celular, por lo que los autores sugirieron que las células con receptores esteroidales pertenecen a una población celular diferente de la que prolifera; al respecto, Wagner *et al.* (2005), sugirieron que en ratonas, las CE con receptores para E y/o P4, posiblemente pertenecen al grupo de células progenitoras de la glándula mamaria que originan a las CE de los alvéolos y de los ductos distales; estas células, generalmente se encuentran localizadas en las ramificaciones ductales laterales y en las unidades ductales

terminales. En ruminantes, la investigación sobre células progenitoras de la glándula mamaria es muy limitada, sin embargo se ha observado que un tercio de la población de CE RE+ se localiza incrustado en la capa epitelial de los ductos, distantes de la lámina basal y el lumen, de manera similar al sitio de localización de las células progenitoras en ratonas, por lo que existe la posibilidad de que esta población de CE RE+ sea al igual que en ratonas, parte de las células progenitoras (Connor *et al.*, 2007).

Se ha observado que en ratonas, a lo largo de la gestación, la localización de las células con receptores para P4 se modifica; durante la etapa temprana de la preñez, las CE RP4+ sólo se encuentran localizadas en los ductos, posteriormente, a los 14 días de gestación, las CE RP4+ se localizan tanto en ductos como en los alvéolos (Aupperlee *et al.*, 2005). En cuanto a las células RE+, si bien no se encontraron referencias sobre su patrón de localización durante la gestación, se ha observado que al final de la gestación, cuando termina el desarrollo del sistema lóbulo alveolar, disminuye el número de células RE+ (Fendrick *et al.*, 1998; Saji *et al.*, 2000); También, se ha observado que la aplicación de E, modifica la distribución de células con RE a lo largo del árbol ductal; en ratonas púberes, ovariectomizadas y tratadas con implantes de 17 β estradiol, las células RE+ se distribuyeron en gradientes de concentración de mayor a menor a lo largo del árbol ductal, hallándose la mayor la concentración de células ER+ tanto del PAR como en el EST del área cercana al pezón, hasta no encontrar CE RE+ en los botones ductales terminales en la zona de células capuchón (cap cells) ni en las células del EST que rodea los ductos distales (Daniel *et al.*, 1987; Shyamala *et al.*, 2002). La aplicación de P4 no causó la expresión de RE o RP4 en las células de ratonas gestantes, en cambio, la aplicación de E más P4, originó que las CE de los ductos distales proliferaran, se desarrollaran estructuras lóbulo alveolares y que aumentara la expresión de RP4 en las CE (Fendrick *et al.*, 1998). La administración de E, modifica la expresión de receptores para E y P4 dependiendo del tiempo de exposición. La fase de menor

expresión de RE en las células del EST fue a las 6 horas de exposición, lo que coincidió con el pico de expresión de RP4+ en las CE (Shyamala *et al.*, 1992).

Al inicio de la gestación, en ratonas, la P4 favorece la elongación y ramificación lateral de los ductos mamarios; posteriormente, durante la segunda mitad de la gestación, la P4 causa que los ductos secundarios y terciarios se ramifiquen lateralmente y que se forme lo que se conoce como botones alveolares, sin embargo esta acción de la P4 es dependiente de los E, ya que estos inducen la expresión de RP4 en las CE del parénquima distal; los E a su vez, causan que las CE y del EST positivas a RE, liberen FC (principalmente IGF-I) los cuales actúan sobre las CE de los ductos más cercanos al ducto primario (Fendrick *et al.*, 1998; Bocchinfuso *et al.*, 2000; Brisken, 2002; Mueller *et al.*, 2002; Shyamala *et al.*, 2002; Aupperlee *et al.*, 2005; Connor *et al.*, 2007).

Lactogénesis

Lactogénesis es el término empleado para referirse al proceso de diferenciación funcional que experimentan las CE mamarias, cambiando de un estado no secretor de leche a uno secretor. Este fenómeno se encuentra asociado con el último tercio de la gestación y el inicio del parto (Tucker, 1994; Hurley, 2003; Brisken *et al.*, 2006).

La lactogénesis comprende de dos fases:

- a) Lactogénesis 1: es la fase en la que inicia la diferenciación citológica y enzimática de las CE (incremento en la expresión de los genes involucrados en la síntesis de acetil CoA carboxilasa, de sintetasa de ácidos grasos, β -caseína y lactoalbúmina e incremento de la respuesta de sistema de transporte de aminoácidos y glucosa). Lo anterior determina la síntesis y secreción de calostro previa al parto (Hurley, 2003; Akers, 2000b; Brisken *et al.*, 2006).
- b) Lactogénesis 2: involucra la diferenciación estructural y bioquímica completa de las CE, lo que coincide con la secreción copiosa de todos los componentes de la leche debido a que los cambios hormonales asociados con el parto (disminución de la progesterona e incremento en los

glucocorticoides y prolactina) conducen a la transcripción del gen de la α -lactoalbúmina, el ARNm de ésta es trasladado al aparato de Golgi en donde la proteína de α -lactoalbúmina interactúa con la galactosiltransferasa en la síntesis de la lactosa, una de las mayores determinantes del volumen de leche secretado. Lo anterior, empieza alrededor de 0 a 4 días antes y 1 a 3 días después del parto y continúa hasta que la máxima secreción de leche ocurre (pico de la lactación) (Hurley, 2003; Tucker, 1994).

Regulación de la lactogénesis

Varios cambios hormonales ocurren en la sangre materna alrededor del inicio del parto, éstos, además de integrar los eventos del parto, están en gran parte relacionados con el control hormonal del inicio de la lactación. Debido a que no existe una única hormona que regule el inicio de la lactación, se habla de un complejo hormonal lactogénico, representado por diferentes hormonas que varían entre especie; en vacas, este complejo está compuesto principalmente por cortisol, PRL y GH (Hurley, 2003).

Durante la gestación, los niveles de PRL, GH y cortisol, se incrementan de manera acelerada entre los 5 a 3 días antes del parto (Tucker, 1994; Hashizume *et al.*, 1999; Hurley, 2003).

Para que se inicie la lactogénesis, es necesario que las concentraciones de P4 disminuyan, ya que inhibe las acciones de la PRL y el cortisol sobre la diferenciación y síntesis de compuestos de la leche por parte de las CE (Tucker, 1994; Hurley, 2003).

La PRL estimula la transcripción de los genes de caseína y α -lactoalbúmina, la síntesis de proteínas, lactosa y grasa de la leche (Hurley, 2003). El cortisol durante la lactogénesis, promueve que las uniones estrechas que hay entre las CE se cierren, sin embargo esto no sucede hasta que los niveles de P4 decaen (Nguyen, 1998; Silberstein *et al.*, 1998); induce la diferenciación y el desarrollo del retículo endoplásmico rugoso y del aparato de Golgi, promueve la transcripción de los genes de caseína y β -lactoalbúmina. El cortisol actúa de manera sinérgica con la

PRL, ya que sin el, la PRL no estimula la síntesis de caseína (Tucker, 1994; Hurley, 2003).

La GH incrementa las propiedades lactogénicas de la PRL y el cortisol. En vacas gestantes a las que se les aplica bromocriptina, se ha observado que hay una disminución de aproximadamente el 45% de la producción de leche durante los primeros 12 días de la lactación, sin embargo, a diferencia de otras especies (ratona, rata, coneja) no se inhibe la lactación, esto posiblemente se deba a que la GH se une a los receptores para PRL, simulando su acción (Hurley, 2003).

Métodos de inducción a la lactación

Efectos de los tratamientos lactoinductores en la producción de leche

La búsqueda de un método de inducción artificial a la lactación o lactoinducción en vacas lecheras, data desde 1934 (Turner, 1934; Trentin y Turner, 1948), cuando el grupo de investigación en Ciencias de la leche de la Universidad de Missouri, en los Estados Unidos de Norte América, observó que el desarrollo del sistema lóbulo-alveolar y la producción de fluido dentro de los alvéolos coincidía con el aumento en la concentración sanguínea de estrógenos y progesterona durante la gestación de ratonas, ratas, cobayas, conejas, cabras y vacas; posteriormente, varios grupos de investigadores (Hammond y Day, 1944; Kelin, 1946; Turner, 1959) se sumaron a la tarea de probar en vacas, que con la aplicación de estrógenos y progesterona durante varios rangos de tiempo, se lograba el desarrollo de la glándula mamaria y la subsiguiente producción de leche, si bien no en cantidades similares a las producidas por animales recién paridos, se presentó la oportunidad de desarrollar una herramienta que permitiera disminuir las pérdidas económicas que a los productores lecheros les ocasionaba tener animales con problemas para quedar gestantes, al lograr que produjeran leche (Turner, 1934).

Al inicio, los tratamientos variaron en el tipo de estrógeno empleado (dietilestilbestrol, hexestrol o benzoato de estradiol), la proporción de estrógenos: progesterona (1:1000, 1:400, 1:200, 1:140, 1:40 ó 1:2), en algunos trabajos la proporción fue en aumento, la duración del tratamiento (60 hasta 180 días), la

especie de los animales utilizados (cabras o vacas), el estado fisiológico (vacas Freemartin, gemelas, becerras, vaquillas o vacas que no podían gestar) y la raza de los animales (Jersey, Guernsey u Holstein, en el caso de becerras). Los resultados por consiguiente fueron diversos; en algunos se observó desarrollo de los alvéolos, tejido alveolar homogéneo y compacto, ligera secreción alveolar o producción de 5 a 13 kg de leche (protocolo con 100µg de benzoato de estradiol más 100 mg de progesterona durante 180 días y posteriormente 3 mg de benzoato de estradiol durante 2 semanas más) (Turner *et al.*, 1956).

En 1971, Smith *et al.*, lograron la producción de calostro en vacas y vaquillas mediante la administración IM de 17β estradiol (0.1 mg/kg PV/día) mas progesterona (0.25 mg/kg PV/día) durante 7 días (dosis total dividida en 2 y aplicada cada 12 horas). A partir de lo anterior, Smith y Schanbacher (1973) realizaron una serie de trabajos en los que demostraron que empleando el tratamiento de Smith *et al.* (1971) era posible inducir lactancias con producciones promedio de 14.9 kg de leche/día. Con esto se logró una apertura histórica de la investigación sobre métodos para inducir hormonalmente a la lactación, los cuales pueden clasificarse en 2 generaciones de acuerdo a las hormonas empleadas durante el procedimiento.

Los protocolos de primera generación tuvieron como tratamiento base la aplicación de 17β estradiol (0.1 mg/kg PV) (Smith y Schanbacher, 1973; Willet *et al.*, 1976; Erb *et al.*, 1976b; Keller *et al.*, 1977; Jordan *et al.*, 1981; Magliaro *et al.*, 2004) o benzoato de estradiol (Erb *et al.*, 1976; Harness *et al.*, 1978), más progesterona (0.25 mg/kg PV) durante 7 días. Posteriormente se agregaron 2 ó 3 aplicaciones de dexametasona (20 mg/día) entre los días 17 al 20 del tratamiento (Collier *et al.*, 1975; Collier *et al.*, 1976; Croom *et al.*, 1976; Fulkerson, 1978; Chakriyarat *et al.*, 1978; Chakravarty *et al.*, 1981; Sawyer *et al.*, 1986) ó 5 mg/día de reserpina (alcaloide derivado de la Rauwolfia, el cual incrementa la liberación de prolactina) entre los días 7 al 16 del tratamiento (Collier *et al.*, 1977; Lembowicz *et al.*, 1982) o reserpina y dexametasona (Peel *et al.*, 1978; Davis *et al.*, 1983). Finalmente, en algunos trabajos, los autores agregaron hormona liberadora de

tirotropina (Jordan *et al.*, 1981) o lactógeno placentario bovino recombinante (Byatt *et al.*, 1997).

El porcentaje de animales que respondió exitosamente (generalmente >9 kg de leche/día) a estos protocolos fue variable (40 al 100%). Cuando los tratamientos fueron aplicados a vaquillas, el porcentaje de éxito fue mayor al de las vacas y también los resultados fueron sugerentes de que la administración de dexametasona (Chakriyarat *et al.*, 1978; Fulkerson, 1978) y/o reserpina aumenta el número de vacas inducidas a lactar exitosamente (Collier *et al.*, 1975; Collier *et al.*, 1977; Lembowicz *et al.*, 1982; Davis *et al.*, 1983;). En general, el pico de producción de leche fue alcanzado de 3 a 9 semanas después del inicio de la lactación. De los trabajos citados, no es posible concluir cual de los protocolos fue el mejor en cuanto a producción de leche y duración de la lactancia, ya que además del efecto de los tratamientos existió variabilidad debida al reducido número de animales experimentales por grupo (máximo 10), a la extensa diversidad de razas empleadas (Holstein, Jersey, Guernsey, Suizo Pardo, Red Sindhi y sus cruza, entre otras), no hubieron testigos de lactación natural ni se estudiaron las lactaciones completas.

Los protocolos de segunda generación se caracterizan por la adición de somatotropina bovina recombinante durante el periodo de tratamiento y en ocasiones, la adición de E durante 7 días posteriores a la aplicación de E + P4. Chahine *et al.*, en 2001 indujeron a lactar vacas Holstein en dos estaciones del año (invierno y primavera); el tratamiento consistió de aplicaciones subcutáneas de 17β estradiol (0.1 mg/kg PV/día) más progesterona (0.25 mg/kg PV/día) durante 7 días, una inyección de dexametasona (0.05 mg/kg PV) en el día 14, además 500 mg de somatotropina bovina en los días 1 y 11. El ordeño inició (3 veces al día) el día 15 y continuó hasta el día 123. Se consideró que no respondieron al tratamiento las vacas que produjeron <9.1 kg de leche/día en los primeros 24 días de la lactación; la inducción fue considerada exitosa si la producción total de un día fue mayor a 13.6 kg en el día 50 de la lactación. El 86 y 88% de los animales respondieron al tratamiento inductor (en invierno y primavera,

respectivamente). La producción total de leche al día 123 de la lactación fue de 2966 kg y 2729 kg, sin detectar diferencia entre estaciones. La inducción de la lactación fue exitosa en un 85%.

Isidro *et al.*, también en el 2001, en un estudio preliminar, indujeron a lactar 14 vacas y 11 vaquillas Holstein candidatas a desecho mediante la administración de cipionato de estradiol (30 mg/día) más progesterona (375 mg/día) durante los días 1 al 7, cipionato de estradiol (15 mg/día) los días 8 al 14, somatotropina bovina-zinc (500 mg/día) en los días 1, 7, 14, 21 y posteriormente cada 14 días, por último flumetasona (2.5 mg/día) los días 18, 19 y 20, iniciando con el ordeño el día 21. La producción de leche de los animales inducidos representó el 90.3% de la lactancia natural previa o en el caso de las vaquillas la primer lactancia natural de las vacas inducidas a lactar. Se logró un promedio de 31.5 kg/día en lactaciones de 290 días.

Jewell en 2003, indujo a lactar 8 vacas Jersey y 26 vacas Holstein. El tratamiento inductor fue el siguiente: 0.1 mg/kg PV/día de 17β estradiol más 0.25 mg/kg PV/día de progesterona del día 1 al 7, del día 14 al 17 se aplicaron 5 mg/día de reserpina y 20 mg/día de dexametasona. El día 13 se aplicó a todas las vacas una inyección de $PGF2\alpha$ (25 mg) para iniciar la luteólisis de cuerpos lúteos existentes. Todas las vacas recibieron el día 19, somatotropina bovina (500 mg/ dosis). El ordeño (dos veces al día) inició el día 19 y se continuó durante 150 días. El 92% de las vacas Holstein respondió exitosamente al tratamiento (>9 kg de leche/día), el 88% de las vacas Jersey respondió con éxito al tratamiento (>5 kg de leche/día). El 88% de las vacas Holstein produjo >20 kg de leche/día, el mismo porcentaje de las vacas Jersey produjo >10 kg de leche/día.

Espinosa (2005) y Yáñez (2006) realizaron 2 experimentos en los que se aplicó el mismo protocolo de inducción desarrollado por Isidro *et al.* (2001). En el experimento 1, se analizaron los registros de 65 lactaciones inducidas (LI) contra 269 naturales. La producción de leche por día y total fue 28% mayor en las vacas de LN (36.8 vs. 30.3 kg/día y 12758 vs. 9236 kg) al igual que la duración de la lactancia (341 vs. 298 días).

Efecto de los tratamientos lactoinductores en la reproducción

Uno de los objetivos principales del empleo de los protocolos lactoinductores, es obtener una lactación en las vacas y vaquillas destinadas al desecho por problemas reproductivos (Chakravarty *et al.*, 1981; Isidro *et al.*, 2001; Crooker *et al.*, 2004), sin embargo, se ha observado que la aplicación de los tratamientos lactoinductores, también influye en la situación reproductiva de los animales; al respecto, después de la aplicación de protocolos de primera generación que incluyeron o no dexametasona y/o reserpina, algunos autores (Collier *et al.*, 1975; Fulkerson, 1978; Peel *et al.*, 1978; Lembowicz *et al.*, 1982) observaron que no obstante el historial de problemas reproductivos previos a la lactoinducción, entre el 38 al 90% de las vacas y vaquillas quedaba gestante después de 1 a 3 servicios. Isidro *et al.* (2001) y Espinosa (2005), emplearon un protocolo de segunda generación que incluyó la aplicación de STb durante el periodo del tratamiento y observaron que el intervalo entre partos (196 días) en las vacas y vaquillas lactoinducidas se reducía en un 51% con respecto a los animales de LN, una tasa de gestación cercana al 50% después de 1 a 7 servicios y una duración del periodo abierto de 164 días.

Sin embargo, también existen trabajos en los que se observó la presentación de conducta de tipo estral durante la lactoinducción y al menos el primer mes de la lactación, además de la formación de quistes ováricos en el 27 al 90% de los animales lactoinducidos (Smith y Schanbacher, 1973; Collier *et al.*, 1975; Erb *et al.*, 1976; Chakriyatat *et al.*, 1978; Fulkerson, 1978; Jordan *et al.*, 1981; Peel *et al.*, 1981; Lembowicz *et al.*, 1982; Davis *et al.*, 1983; Sawyer *et al.*, 1986; Espinosa, 2005).

En el 2006, Valdez, realizó un experimento en el que empleó vacas Holstein, ovariectomizadas (OVX) y no ovariectomizadas (COMP), a las que les aplicó el mismo protocolo lactoinductor que Isidro *et al.* (2001); y observó, que la mayor actividad de tipo estral fue entre los 8 al 14 días de la lactación, tanto en las vacas OVX como las COMP; de igual forma, no encontró diferencia en la concentración de estrógenos en sangre entre las vacas OVX y las COMP. Todas las vacas

desarrollaron quistes ováricos y 3 de 5 vacas, lo resolvieron de manera espontánea, ovulando los días 33,39 y 47 de la lactación. Por lo que sugirió que la actividad de tipo estral en vacas lactoinducidas se encuentra mediada por el estradiol aplicado durante el tratamiento y no por los estrógenos ováricos.

CIDR

Entre la década de los 60 y el inicio de la década de los 70, comenzó el desarrollo de dispositivos de liberación de P4 para controlar el ciclo estral del ganado. Los primeros implantes fueron fabricados con silicón impregnado con elevados contenidos de P4, eran de gran tamaño y se diseñaron para ser insertados en el costado del animal. Por haber resultado imprácticos, se fabricaron diversos dispositivos de diferentes tamaños y formas para ser colocados en la vagina, incluyendo esponjas de poliuretano (Rathbone *et al.*, 1997).

Posteriormente, un grupo de investigación de los Laboratorios Roche y Abbott, desarrolló un dispositivo al cual llamaron PRID (siglas en inglés de progesterone release intravaginal device, dispositivo intravaginal de liberación de progesterona), el cual constó de una matriz de silicón con 1.55 g de progesterona y que cubría una espiral compuesta de una ligera capa de acero, en cuyo extremo posterior tenía unido un cordón de nylon que salía de la vagina después de ser insertado; además, pegada a la superficie interior de la espiral se encontraba una cápsula de gelatina dura que contenía 10 mg de benzoato de estradiol. El PRID liberaba 1200 mg de P4 (Rathbone *et al.*, 1997).

Otro dispositivo de liberación de P4 es el CIDR (por las siglas en inglés de controlled internal drug release). Este dispositivo fue desarrollado para su uso en borregas y cabras. Inicialmente existían 2 tipos, el CIDR-S y el CIDR-G, el primero tenía forma de orejas de conejo y el segundo forma de T; estos se fabricaban mediante la inyección de una matriz de silicón impregnada de una dispersión homogénea de P4 al 9% micronizada, sobre un esqueleto de nylon que al final tenía unido un cordón también de nylon. Posteriormente se desarrolló el CIDR-B para su uso en bovinos (ahora conocido sólo por CIDR), este tenía la forma en T

del CIDR-G que conserva el actual dispositivo, pero en cambio, tenía mayor tamaño y contenido de progesterona (10%, 1.9 g) (Rathbone *et al.*, 1997).

Rathbone *et al.* (2002) durante la evaluación de un inserto intravaginal de poli(ϵ -caprolactona) de liberación de P4 contra un CIDR, observaron que la concentración máxima de progesterona en plasma de vacas Holstein tratadas con CIDR fue de 4.2 ± 0.6 a 5.8 ± 0.4 ng/ml y que el tiempo para alcanzar la máxima concentración en plasma tuvo un rango de 0.2 ± 0.0 a 1.0 ± 0.3 días. En vacas Holstein no lactando, ovariectomizadas y tratadas con 1 CIDR por 7 días, la concentración máxima en plasma fue de 5 ng/ml en el día 2, posteriormente disminuyó aproximadamente a 3.5 ng/ml y se mantuvo constante hasta el día en el que el dispositivo se retiró, 8 horas después del retiro las concentraciones de P4 eran similares a las encontradas antes de la inserción del dispositivo (Beal *et al.*, 2003).

En vacas de la raza Brangus, sincronizadas al estro mediante la utilización de un CIDR, Solórzano (2005) observó que la concentración máxima de P4 sérica fue de 6.6 ng/ml, 12 horas después de insertado el dispositivo. Posteriormente, las concentraciones de P4 se mantuvieron en un rango de 6 a 4.5 ng/ml durante los 7 días en que se mantuvo insertado el CIDR, disminuyendo hasta 1 ng/ml el día posterior al retiro del dispositivo.

Por ahora, el CIDR se utiliza para programas de sincronización del estro combinado con inyecciones intramusculares de otros hormonales y se ignora si la cantidad de P4 que libera, es suficiente para inducir la mamogénesis y síntesis de leche en vacas y vaquillas lecheras.

HIPÓTESIS

En vacas y vaquillas Holstein destinadas al desecho por problemas reproductivos e inducidas a lactar mediante un tratamiento de 21 días que incluye P4 inyectada intramuscularmente (IM) los primeros 7 días:

- 1) La sustitución de inyecciones de P4 IM, por el suministro de P4 mediante un dispositivo intravaginal de liberación de progesterona (CIDR), aplicado los días 1 al 7 del tratamiento lactoinductor, desarrolla la glándula mamaria y promueve lactaciones similares a las inducidas con las inyecciones de P4.
- 2) La sustitución de inyecciones de P4 IM, por el suministro de P4 mediante un CIDR, no afecta el desempeño reproductivo con relación a los animales inyectados con P4.
- 3) El suministro de P4 mediante la aplicación de 2 CIDR, insertados en los animales uno a la vez, los días 1 al 7 y 8 al 14 del tratamiento lactoinductor, genera una respuesta productiva superior a la de los protocolos de 7 inyecciones e P4 y un CIDR, sin modificar el desempeño reproductivo.

OBJETIVO

Determinar en vacas y vaquillas destinadas a la eliminación del ható por problemas reproductivos:

1. El efecto de la aplicación de un CIDR como fuente de P4, durante los días 1 al 7 del tratamiento lactoinductor y
2. El efecto de la aplicación de 2 CIDR como fuente de P4, uno a la vez, los días 1 al 7 y 8 al 14 del tratamiento lactoinductor dentro de un protocolo de inducción hormonal a la lactación, sobre las concentraciones sanguíneas de progesterona, la producción de leche, y el desempeño reproductivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó durante los meses de octubre de 2005 a mayo de 2006 en el Rancho “El Colorado”, localizado en el municipio del Marqués del estado de Querétaro, México.

Animales y manejo general

Se utilizaron 15 vacas y 15 vaquillas Holstein que por su situación reproductiva (infértiles, síndrome de la vaca repetidora) eran candidatas a la eliminación del hato. Las vacas tuvieron un valor lechero relativo mayor a 100 (Asociación Holstein de México) y un promedio de 73.5 días de secado (rango: 5 a 178 días). Las vaquillas tenían entre 18 y 27 meses de edad.

Adicionalmente, se utilizaron como testigo absoluto un grupo de vacas (n= 11) y vaquillas (n= 4) cuyo parto natural coincidió con el período (± 10 días) de inicio de la lactación de los animales inducidos.

Durante los 21 días de tratamiento, los animales se mantuvieron separados del hato y consumieron una dieta de impulso para vacas preparto. Cuando las vacas entraron a la línea de ordeño, recibieron la ración correspondiente al grupo de vacas de su nivel de producción. En todos los casos la dieta fue integral y se les ofreció 2 veces al día.

Las vacas fueron ordeñadas 2 veces/día y fueron asistidas periódicamente por médicos veterinarios especialistas en clínica y reproducción.

Tratamientos

El tratamiento base para la inducción hormonal se efectuó bajo el siguiente esquema:

- a) Aplicación diaria de una inyección IM de progesterona (375 mg) o aplicación de progesterona en CIDR + aplicación diaria de una inyección IM de cipionato de estradiol (30 mg) los días 1-7.
- b) Aplicación diaria de una inyección IM de cipionato de estradiol (15 mg) con/sin la aplicación de progesterona en CIDR los días 8-14.
- c) Sin tratar los días 15-17.
- d) Aplicación diaria de una inyección IM de flumetasona (2.5 mg), los días

18-20.

e) Aplicación de una inyección subcutánea de somatotropina bovina-zinc (500 mg). Los días 1, 7, 14, 21.

f) Inicio de la ordeña el día 21.

Bajo el esquema anterior se contó con 4 grupos:

1. Testigo absoluto: vacas y vaquillas de lactancia natural (LN)
2. Testigo positivo (INyec): inyección IM diaria de progesterona por 7 días + cipionato de estradiol (30 mg/día/ 7 días y 15 mg/día/ 7 días)+ flumetasona + somatotropina (**Figura 1**).
3. 1CIDR: progesterona en CIDR (7 días) + cipionato de estradiol (30 mg/día/ 7 días y 15 mg/día/ 7 días) + flumetasona + somatotropina (**Figura 1**).
4. 2CIDR: progesterona en CIDR (2 CIDR, 1 CIDR/7 días) + cipionato de estradiol (30 mg/día/ 7 días y 15 mg/día/ 7 días) + flumetasona + somatotropina (**Figura 1**).

Muestras y mediciones

Se emplearon los registros lecheros del rancho, de los cuales se tomó la producción de leche total de la lactación previa a la lactoinducción (**LPRE**), la producción de leche por vaca (kg/día) mensual durante siete meses (noviembre a mayo de 2005, día 210 de la lactación), la producción total por vaca y situación reproductiva (número de servicios por concepción, días abiertos, gestantes o vacías).

Además, se tomó el registro de la duración del periodo seco (**DS**) previo a la lactoinducción para estimar su efecto sobre la producción de leche durante la lactación inducida.

Para determinar las concentraciones de progesterona se tomó una muestra de sangre a partir del día 5 del tratamiento y cada 5 días hasta el día 35 de la lactación. Se obtuvo el suero de las muestras y se congeló para su posterior análisis en el laboratorio de reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Para estimar el efecto del tratamiento lactoinductor (INyec, 1CIDR y 2CIDR) sobre el desarrollo mamario, los días 1 y 21 del tratamiento, se midieron con una cinta métrica el largo de la ubre (**LU** = a partir de la unión de la ubre con el abdomen hasta el pezón trasero derecho) y el ancho de la ubre (**AU** = parte más ancha de la zona caudal de la ubre) (**Figura 2**).

A partir del día 21, se realizó la detección del estro 2 veces al día después de cada ordeño.

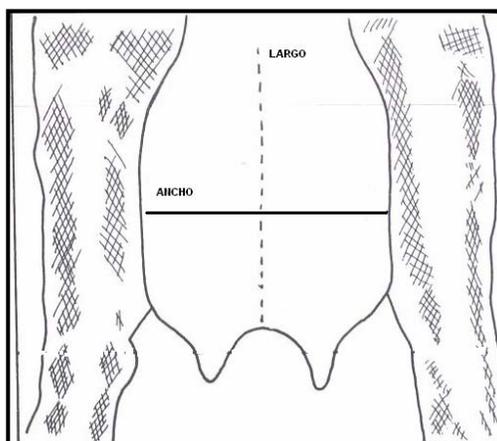


Figura 2. Sitios de medición para el cálculo de los cambios del tamaño de la ubre

Variables de respuesta

Producción

- 1) Producción total de leche (**PLTOT**). Producción total estimada por el programa DairyCom al último día en ordeña.
- 2) Producción de leche (kg/animal/día) durante 210 días en leche (**PLDIA**). Registro de la producción de leche, el cual se tomó una vez al mes hasta el día 210 en leche.
- 3) Media de producción de leche (kg/animal/día) durante 210 días en leche (**PLDIA210**). La media de todas las observaciones de PLDIA.
- 4) Producción de leche máxima por animal (**PLPICO**).
- 5) Día de máxima producción de leche por animal (**DMP**).
- 6) Duración de la lactación (**DEL**). Días que duró la lactación de acuerdo al programa DairyCom.
- 7) Porcentaje de vacas inducidas exitosamente (**%E1** y **%E2**). Se usaron 2 criterios 1) uno arbitrario, porcentaje de vacas y vaquillas que tuvieron un promedio de PLDIA al día en que se dejó de ordeñar (en el caso de los animales que salieron del experimento antes del día 210 de la lactación) o PLDIA210, mayor a 9 kg/día (**%E1**), para poder comparar con el criterio usado en otros trabajos (Collier *et al.*, 1975; Collier *et al.*, 1977; Jewell, 2003) y 2)

Porcentaje de vacas y vaquillas que tuvieron un promedio de PLDIA al día en que se dejó de ordeñar o PLDIA210, mayor a la media de PLDIA210 de los animales de LN menos 2 desviaciones estándar (%E2).

Progesterona

- 1) Concentraciones de progesterona (**CP4**) determinadas por radioinmunoanálisis (Coat a Count, Diagnostic Products Corporation, DPC, Los Angeles, CA; sensibilidad de 0.1 ng/ml, con un CV intraensayo de 10.72%, media del control 5.71 ± 0.61 ng/ml)

Medición de la ubre

- 1) Incremento en el largo (**LU**) y el ancho (**AU**) de la ubre. Diferencia entre las mediciones del día 21 y el día 1 del tratamiento.

Desempeño reproductivo

- 1) Días en estro (**DEC**). Número de días en que los animales permanecieron en estro a partir del inicio de la ordeña.
- 2) Tasa de servicios por concepción (**SC**) = número de servicios para que una vaca quede gestante/ animales gestantes.
- 3) Tasa de gestación (**TG**)= animales gestantes/animales servidos.
- 4) Días abiertos (**DA**) = número de días a primera concepción o al último día en ordeño, tomando en cuenta el día de inicio de la lactación (inducida o natural, según fue el caso).

Después de la inducción, debido a criterios de manejo del establo en el que se realizó este trabajo, algunos de los animales fueron vendidos o murieron por causas ajenas al experimento (**Cuadro 2**), además, para el análisis de la respuesta productiva sólo se contó con la información 7 vacas y 4 vaquillas de LN, por lo que para los análisis de algunas de las variables de respuesta varía el número de observaciones y grados de libertad.

Diseño experimental y modelos estadísticos

Para PLDIA210, la media de CP4 por tratamiento, LU, AU, DEC y DA, se utilizó un diseño completamente al azar.

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \xi_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = es el valor observado en el i-ésimo tratamiento

μ = es la media general

τ_i = es el efecto del i-ésimo tratamiento (i= INYEC, 1CIDR , 2CIDR y LN en el caso de DA)

ξ_{ij} = es el error residual

En el caso de PLDIA210, se efectuó un segundo análisis en el que se incluyó el efecto

de DS como covariable ($DS = \beta(x_{ij} - \bar{x}_{..})$).

Para PLPICO y DMP, se utilizó un diseño de bloques completamente al azar.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \xi_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = es el valor observado en el j-ésimo animal del i-ésimo tratamiento

μ = es la media general

α_i = es el efecto del i-ésimo tratamiento (i= INYEC, 1CIDR , 2CIDR, LN)

β_j = es el efecto del j-ésimo bloque o animal (j= VACA, VAQUILLA)

$(\alpha\beta)_{ij}$ = es el efecto de la interacción del i-ésimo tratamiento con el j-ésimo animal

ξ_{ijk} = es el error residual

Para PLDIA y CP4, se utilizó un diseño de parcelas divididas para mediciones repetidas.

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \eta_{(ij)k} + \gamma_l + (\alpha\gamma)_{il} + (\beta\gamma)_{jl} + (\alpha\beta\gamma)_{ijl} + (\eta\gamma)_{(ij)kl} + \xi_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijk} = es el valor observado del k-ésimo sujeto en el j-ésimo animal en el i-ésimo tratamiento

μ = es la media general

α_i = es el efecto del i-ésimo tratamiento (i= INYEC, 1CIDR, 2CIDR, LN)

β_j = es el efecto del j-ésimo animal (j= VACA, VAQUILLA)

$(\alpha\beta)_{ij}$ = es el efecto de la interacción del i-ésimo tratamiento con el j-ésimo animal

$\eta_{(ij)k}$ = es el error experimental debido a efectos entre sujetos o parcela grande.

γ_l = es el efecto del l-ésimo muestreo (l =1,2,...,7 ó 12 en el caso de CP4)

$(\alpha\gamma)_{il}$ = es el efecto de la interacción del i-ésimo tratamiento con el l-ésimo muestreo

$(\beta\gamma)_{jl}$ = es el efecto de la interacción del j-ésimo animal con el l-ésimo muestreo

$(\alpha\beta\gamma)_{ijl}$ = es el efecto de la interacción del i-ésimo tratamiento con el j-ésimo animal con el l-ésimo muestreo

$(\eta\gamma)_{(ij)kl}$ = es el efecto de la interacción del k-ésimo sujeto con el l-ésimo muestreo, (este no se puede separar del error experimental debido a efectos dentro de sujetos, ya que no se tomó más de una observación por muestreo)

ξ_{ijk} = es el error experimental debido efectos dentro de sujetos o parcela chica.

Para PLTOT y LPRE, se utilizó un diseño por covariable (DEL).

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta(x_{ij} - \bar{x}_{..}) + \xi_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = valor observado de PL del i-ésimo tratamiento en la j-ésima vaca (j=1,2,...,15) y correspondiente al k-ésimo nivel de DEL.

μ = efecto de la media general

T_i = efecto del i-ésimo tratamiento (i= INYEC, 1CIDR, 2CIDR, LN o LPRE)

β = efecto de regresión de $(x_{ij} - \bar{x}_{..})$, de x_{ij}

x_{ij} = valor de DS en la j-ésima vaca del i-ésimo tratamiento

ξ_{ijk} = error experimental

Análisis estadístico

Para probar la hipótesis de distribución normal, todas las variables fueron sometidas a un análisis de Shapiro-Wilk usando el PROC UNIVARIATE (SAS Versión 8.02, SAS Institute), por lo que:

- 1) Las variables de respuesta PLDIA210, PLDIA, PLTOT, LPRE, LU, AU, CP4 y DA, se analizaron por ANDEVA utilizando el PROC GLM (SAS Versión 8.02, SAS Institute), debido a que se distribuyeron de forma normal.
- 2) Las variables reproductivas (SC y TG) se analizaron por la prueba de Fisher utilizando el PROC FREQ (SAS Versión 8.02, SAS Institute).

El criterio para definir diferencia estadística fue $P < 0.05$.

RESULTADOS

Tasa de desecho

En trabajos previos se insinúa, ya que en ningún caso se presentan datos, que la lactoinducción aumenta la eliminación de animales por fracturas pélvicas, en particular de vaquillas. Por esa razón, se registraron los animales del experimento que fueron eliminados del hato o murieron, así como la causa de ambas condiciones. Solamente murió una vaquilla del tratamiento INYEC y otra de 1CIDR y la causa de muerte en ambos casos no es imputable al tratamiento (**Cuadro 2**).

La venta de animales por baja producción solo incluyó una vaca y una vaquilla del grupo 1CIDR; en este caso si pudiera considerarse como causa de desecho el tratamiento lactoinductor. Con relación a ventas por causas involuntarias, no existieron marcadas diferencias entre los grupos y en todos los casos la causa específica de venta no está relacionada con los tratamientos de lactoinducción (**Cuadro 2**).

Crecimiento de la ubre

No hubo efecto del tratamiento sobre el incremento en el LU y AU de la ubre de los animales inducidos (**Figura 3, Cuadro 3**).

Producción de leche

En el presente estudio, los animales tratados con INYEC, 1CIDR y 2CIDR, tuvieron un %E1 igual a 90, 70 y 90, %E2 igual a 83, 100 y 85, respectivamente.

La media de PLDIA210 de los animales de 1CIDR fue similar a la de los de LN, siendo menor la de los animales de los tratamientos INYEC y 2CIDR. No hubo diferencia entre medias de los tratamientos inductores (**Figura 4, Cuadro 4**). Se detectó efecto de vaca (media \pm ee, 24.9 \pm 1.0 leche kg/día/animal) o vaquilla (20.35 \pm 1.0) sobre la PLDIA210. La PLDIA por mes de lactación de los animales inducidos a lactar (INYEC, 1CIDR y 2CIDR) no fue diferente (**Figura 5, Cuadro 5**). Durante los primeros tres meses de lactación, los animales de LN produjeron más leche por día que los lactoinducidos, sin embargo, del cuarto al séptimo mes de la lactación la PLDIA entre los animales de CIDR y LN no fue diferente, y los animales de INYEC y 2CIDR, permanecieron con una menor producción de los de

LN hasta el día 150 de la lactación. Finalmente, del sexto al séptimo mes no hubo diferencia entre la producción de los animales inducidos (INyec, CIDR y 2CIDR) con LN (**Figura 5, Cuadro 5**).

La PLPICO de los animales de LN fue mayor a la de los animales de INyec y 1CIDR y 2CIDR. No se encontraron diferencias entre los animales de los tres tratamientos lactoinductores (**Figura 6, Cuadro 6**).

El DPM de los animales de LN, fue similar al de los animales de 1CIDR, y menor al de los animales de INyec y 2CIDR. No se detectaron diferencias entre tratamientos lactoinductores (**Figura 7, Cuadro 7**). El DPM de las vacas fue menor al de las vaquillas sin importar el tratamiento (INyec, 1CIDR, 2CIDR o LN) (**Figura 8, Cuadro 7**).

No se detectó efecto del tratamiento (INyec, rango=182-520 días; 1CIDR, rango=288-514 días; 2CIDR, rango=218-520 días y LN, rango=248-502 días) sobre DEL. No se detectaron diferencias entre la PLTOT de INyec, 1CIDR y 2CIDR, siendo menor en INyec y 2CIDR que LN. No se detectaron diferencias entre la PLTOT de las vacas y vaquillas de LN y 1CIDR (**Figura 9, Cuadro 8**).

Con el fin de examinar posibles diferencias fenotípicas entre los grupos de animales lactoinducidos, se examinó la producción de la lactación previa (LPRE); al respecto, no se detectaron diferencias al comparar la LPRE de la lactación natural previa de las vacas tratadas (INyec, 1CIDR, 2CIDR) con la PLTOT de la lactación inducida (**Figura 10, Cuadro 9**).

La duración del periodo seco de los animales en los grupos lactoinducidos, no tuvo efecto sobre la PLDIA210 de la lactación, y no se detectaron diferencias para DS entre tratamientos lactoinductores (INyec= 61 ± 19 , 1CIDR= 76 ± 21 , 2CIDR= 83 ± 31).

Progesterona

Las CP4 en suero (promedio de las muestras de los días 5, 10 y 15 del tratamiento) de los animales de 1CIDR y 2CIDR no fueron diferentes, pero, si menores a las de INyec (**Figura 11, Cuadro 10**). No se detectó efecto de vaca o vaquilla para las CP4 de los animales lactoinducidos. Las CP4 de los animales de

INyec fueron mayores a las de los animales de 1CIDR y 2CIDR en el día 5 del tratamiento, sin embargo en el día 10 fueron similares a las de 2CIDR, y ambas mayores a las de 1CIDR. Finalmente, el día 15 del tratamiento las CP4 de los tratamientos INyec y 1CIDR fueron menores a las de 2CIDR (**Figura 12, Cuadro 11**). Sólo una de las vacas del tratamiento 1CIDR, presentó CP4 mayores a 1 ng/ml en el suero correspondiente a los días 15, 20 y 25 de la lactación, por lo que se sugiere que ovuló.

Desempeño reproductivo

La DEC fue menor en los animales tratados con INyec que la de las vacas y vaquillas de 1CIDR y 2CIDR; entre estos últimos no hubo diferencia (**Figura 13, Cuadro 12**).

La tasa de SC no fue diferente entre los animales de INyec, 1CIDR, 2CIDR y LN, no fue diferente (**Figura 14**). La TG de los animales de 2CIDR fue menor que la de INyec y LN, y no fue diferente a la de 1CIDR. No se detectaron diferencias entre las vacas y vaquillas de los tratamientos INyec, 1CIDR y LN (**Figura 15**). La media de DA no fue diferente entre los animales de los tratamientos INyec, 1CIDR y LN, siendo menor en todos los casos que la de las vacas y vaquillas de 2CIDR (**Figura 16, Cuadro 13**).

Finalmente, con respecto al uso de las inyecciones IM diarias de P4, el empleo de uno o dos CIDR, como parte de un protocolo lactoinductor, redujo el costo del tratamiento por animal en un 12.8 y 5.8%, respectivamente (**Cuadro 14**).

Cuadro 2. Causas de baja del hato (muerte o eliminación) de vacas y vaquillas Holstein lactoinducidas. Las variantes del tratamiento fueron inyecciones diarias IM de P4 por 7 días (INyec), P4 por vía de un CIDR que se mantuvo *in situ* los días 1 a 7 (1CIDR) o de dos CIDR, uno a la vez, los días 1a 7 y 8 a 14 (2CIDR).

Causa de baja	Tratamiento			
	(Número de parto/días en leche/último registro productivo)*			
	INyec	1CIDR	2CIDR	LN
Muerte	1, 11, 6 kg PT ^a	2, 9, 5 kg LP ^b		
Baja producción		1, 78, 6 kg 4, 113, 5 kg		
Problema reproductivo		2, 84, 14 kg UF ^c 1, 84, 8 kg UF ^c	1, 84, 13 kg UF ^c	2, 260, 20 kg RE ^e 3, 275, 22 kg RE ^e
Enfermedad	2, 132, 32 kg TB ^d		1, 56, 9 kg PT ^a	

^aPT= pericarditis traumática. ^bLP= lesión en patas. ^cUF= útero fibroso ^dTB= tuberculosis. ^eRE= repetidora.

* En el cuerpo del cuadro se registra: Número de lactación, días en leche, producción de leche en el último registro, causa de muerte o desecho. Ejemplo 1, 11, 6kg, PTA: 1^a lactación, días en leche 11, 6 kg de leche, pericarditis traumática.

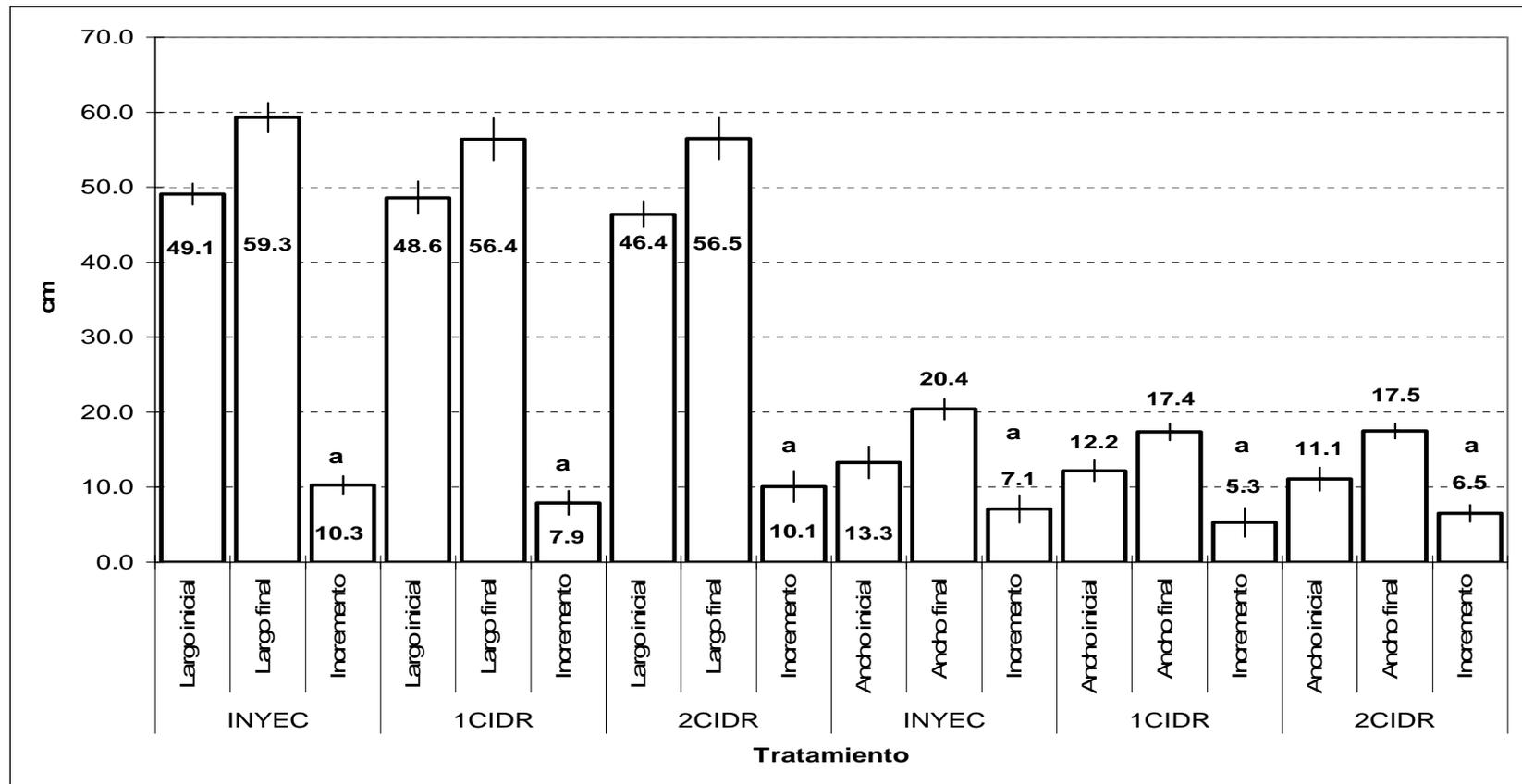


Figura 3. Efecto de un tratamiento lactoinductor en el incremento en el largo (L) y ancho (A) de la ubre de vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INYEC, n= 10), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR, n= 10) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR, n= 10).^a
^b Distintas literales indican diferencias entre medias ($\pm ee$)

Cuadro 3. Análisis de varianza para el incremento del largo y ancho de vacas y vaquillas Holstein inducidas a lactar con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INYEC), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR)

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados tipo III	Cuadrados medios	F calculada	P>F¹
Incremento del largo de la ubre					
Tratamiento	2	35.4666	17.7333	0.64	0.5350
Residual	27	747.9000	27.7000		
Total	29	783.3666			
Incremento del ancho de la ubre					
Tratamiento	2	16.8000	8.4000	0.30	0.7425
Residual	27	753.5000	27.9074		
Total	29	770.3000			

1. P> F = probabilidad de que la F calculada no sea mayor que la F teórica.

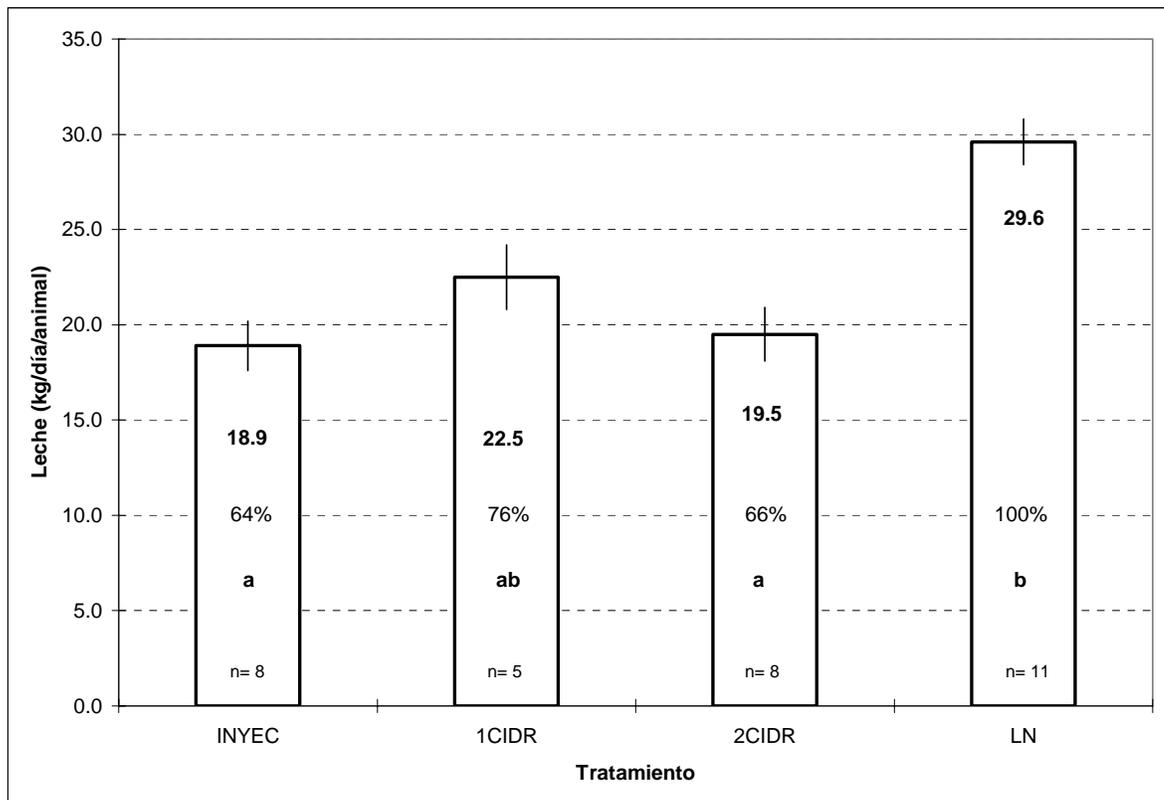


Figura 4. Efecto de un tratamiento lactoinductor sobre la producción de leche diaria al día 210 de lactación en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INYEC), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR). LN indica la producción de leche de las vacas y vaquillas de lactación natural. ^{a, b} Distintas literales indican diferencia entre medias ($\pm ee$).

Cuadro 4. Análisis de varianza para la media de producción de leche (kg/día/animal) al día 210 de la lactación de vacas y vaquillas Holstein, durante una lactación natural (LN) o inducida con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR)

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados tipo III	Cuadrados medios	F calculada	P>F¹
Tratamiento ²	3	672.1590	224.0530	15.54	<0.0001
Animal ^{#2}	1	149.1938	149.1938	10.35	0.0034
Tratamiento*Animal ^{#2}	3	107.0745	35.6915	2.48	0.0858
Residual	24	346.0568	14.4190		
Total	31	1394.5121			

Animal = efecto de vaca o vaquilla

1. P> F = probabilidad de que la F calculada no sea mayor que la F teórica.
2. Estos efectos se probaron con el residual como error.

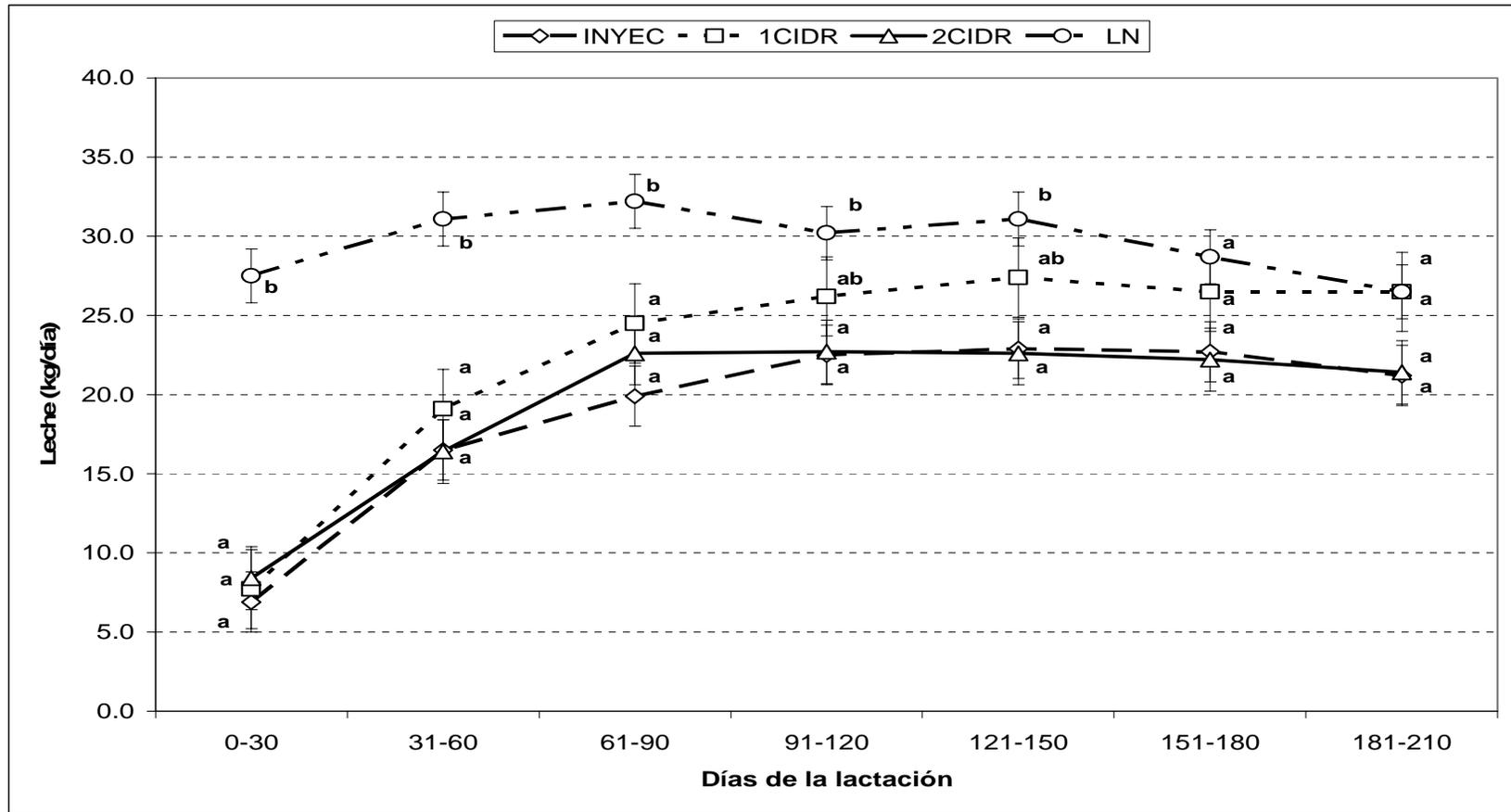


Figura 5. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la producción de leche durante 210 días de lactación en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INYEC, n=8), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR, n=5) ó en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR, n=8). LN (n=11) indica la producción de leche de las vacas y vaquillas de lactación natural. ^{a, b} Distintas literales indican diferencia entre medias ($\pm ee$).

Cuadro 5. Análisis de varianza para mediciones repetidas para la producción de leche (kg/día/animal) de vacas y vaquillas Holstein durante una lactación natural (LN) o inducida con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR)

Prueba de esfericidad					
Criterio de Mauchly	Aproximación de χ^2		Grados de libertad	P > $\chi^{2\ddagger}$	
0.009734	100.87747		20	<0.0001	
Prueba de efectos dentro de sujetos					
Fuente de variación	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	F calculada	P > F¹	
Muestreo ²	6	19	29.44	<0.0001	
Muestreo*Animal ^{#2}	6	19	1.01	0.4451	
Muestreo*Tratamiento ²	18	54.225	1.45	0.1451	
Muestreo*Animal [#] *Tratamiento ²	18	54.225	0.96	0.5130	
Prueba de efectos entre sujetos					
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados tipo III	Cuadrados medios	F calculada	P > F¹
Animal ^{#3}	1	1035.4069	1035.4069	10.21	0.0039
Tratamiento ³	3	4708.7762	1569.5920	15.47	<0.0001
Animal [#] *Tratamiento ³	3	750.4460	250.1486	2.47	0.0867
Residual	24	2434.4163	101.4548		

†. P > χ^2 = valor de la P asociada a la aproximación de χ^2 ; si es menor a 0.05, la matriz de varianzas y covarianzas es diferente a 0.

#. Animal = efecto de vaca o vaquilla.

1. P > F = probabilidad de que la F calculada no sea mayor que la F teórica.

2. Estadístico = Lambda de Wilk.

3. Estos efectos se probaron con el residual como error.

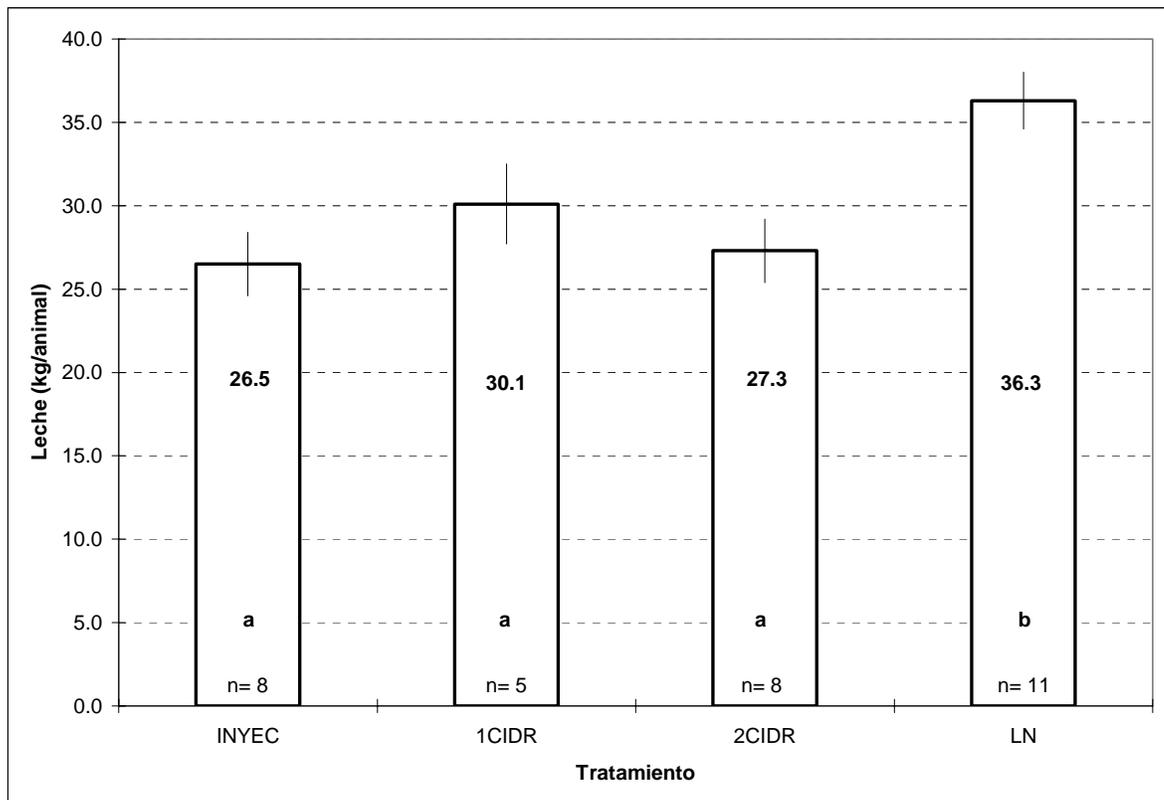


Figura 6. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la producción de leche máxima durante 210 días de lactación en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INYEC), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 (2CIDR). LN indica la producción de leche de las vacas y vaquillas de lactación natural. ^{a, b} Distintas literales indican diferencia entre medias ($\pm ee$).

Cuadro 6. Análisis de varianza para la media de producción máxima de leche (kg/animal) durante 210 días de lactación de vacas y vaquillas Holstein, durante una lactación natural (LN) o inducida con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR)

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados tipo III	Cuadrados medios	F calculada	P>F¹
Tratamiento ²	3	546.9209	182.3069	6.50	0.0022
Animal ^{#2}	1	103.2470	103.2470	3.68	0.0671
Animal ^{#*} Tratamiento ²	3	179.7960	59.9320	2.14	0.1221
Residual	24	673.4404	28.0600		
Total	31	1643.8750			

#. Animal = efecto de vaca o vaquilla.

1. P> F = probabilidad de que la F calculada no sea mayor que la F teórica.
2. Estos efectos se probaron con el residual como error.

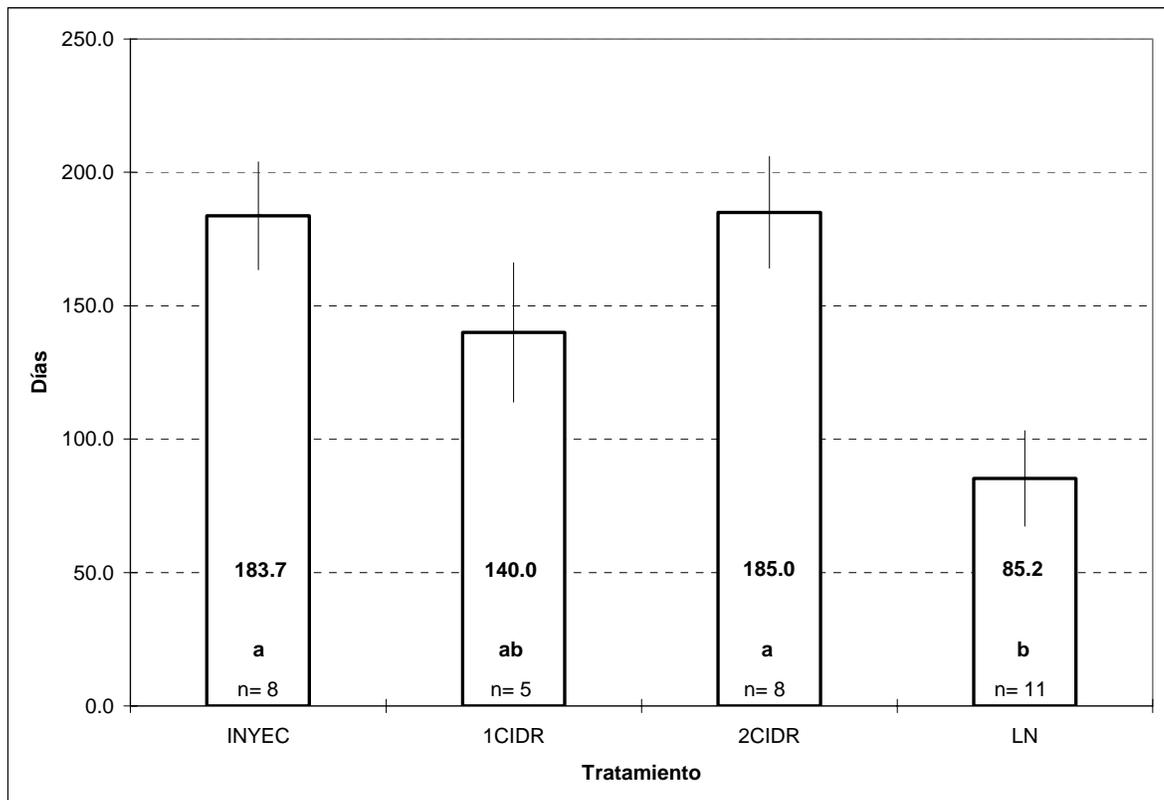


Figura 7. Efecto de un tratamiento lactoinductor en el día de máxima producción de leche durante 210 días de lactación en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INYEC), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR). LN indica la producción de leche de las vacas y vaquillas de lactación natural. ^{a, b} Distintas literales indican diferencia entre medias ($\pm ee$).

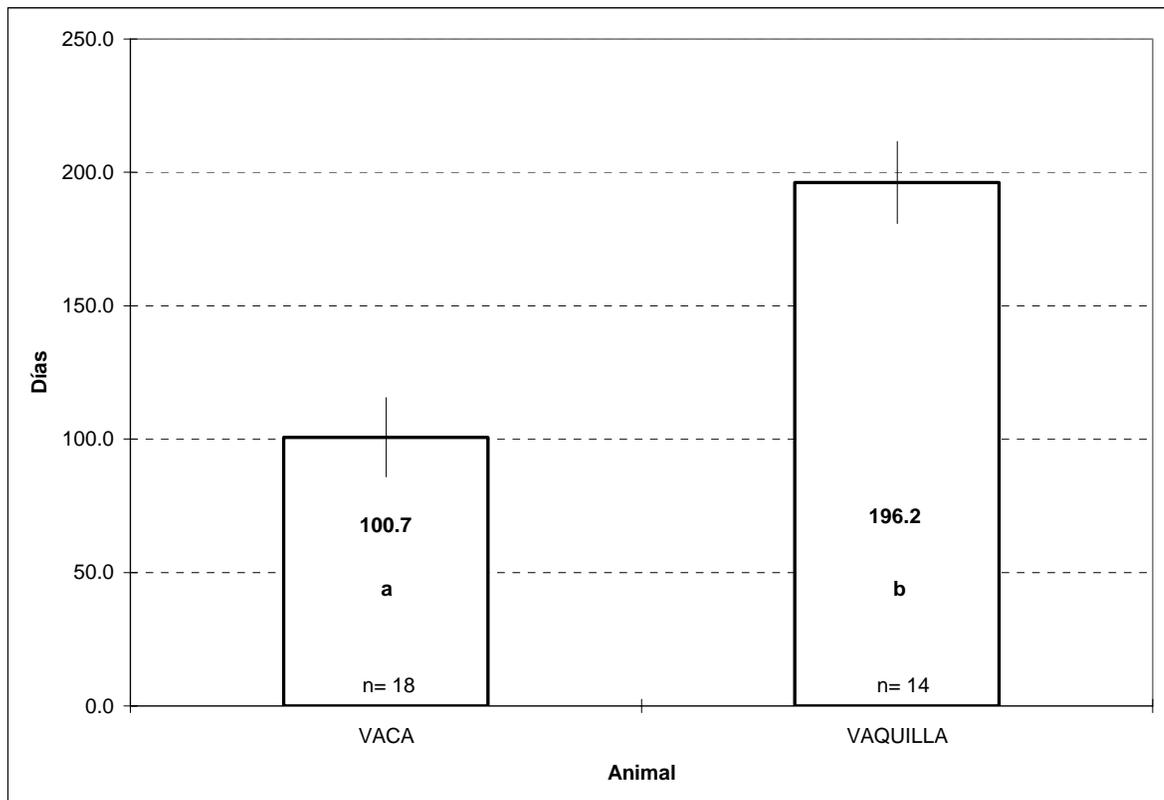


Figura 8. Efecto de vaca o vaquilla en la media del día de máxima producción de leche durante 210 días de lactación de vacas y vaquillas de lactación natural e inducidas a lactar, cuyas variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INyec), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR). ^{a, b} Distintas literales indican diferencia entre medias ($\pm ee$).

Cuadro 7. Análisis de varianza para la media del día de producción máxima de leche, durante 210 días de lactación de vacas y vaquillas Holstein, durante una lactación natural (LN) o inducida con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR)

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados tipo III	Cuadrados medios	F calculada	P>F¹
Tratamiento ²	3	60551.6962	20183.8987	6.18	0.0029
Animal ^{#2}	1	64630.0617	64630.0617	19.80	0.0002
Animal ^{#*} Tratamiento ²	3	24682.9518	8227.6506	2.52	0.0819
Residual	24	78342.8571	3264.2857		
Total	31	235567.9688			

#. Animal = efecto de vaca o vaquilla.

1. P> F = probabilidad de que la F calculada no sea mayor que la F teórica.

2. Estos efectos fueron probados con el residual como error.

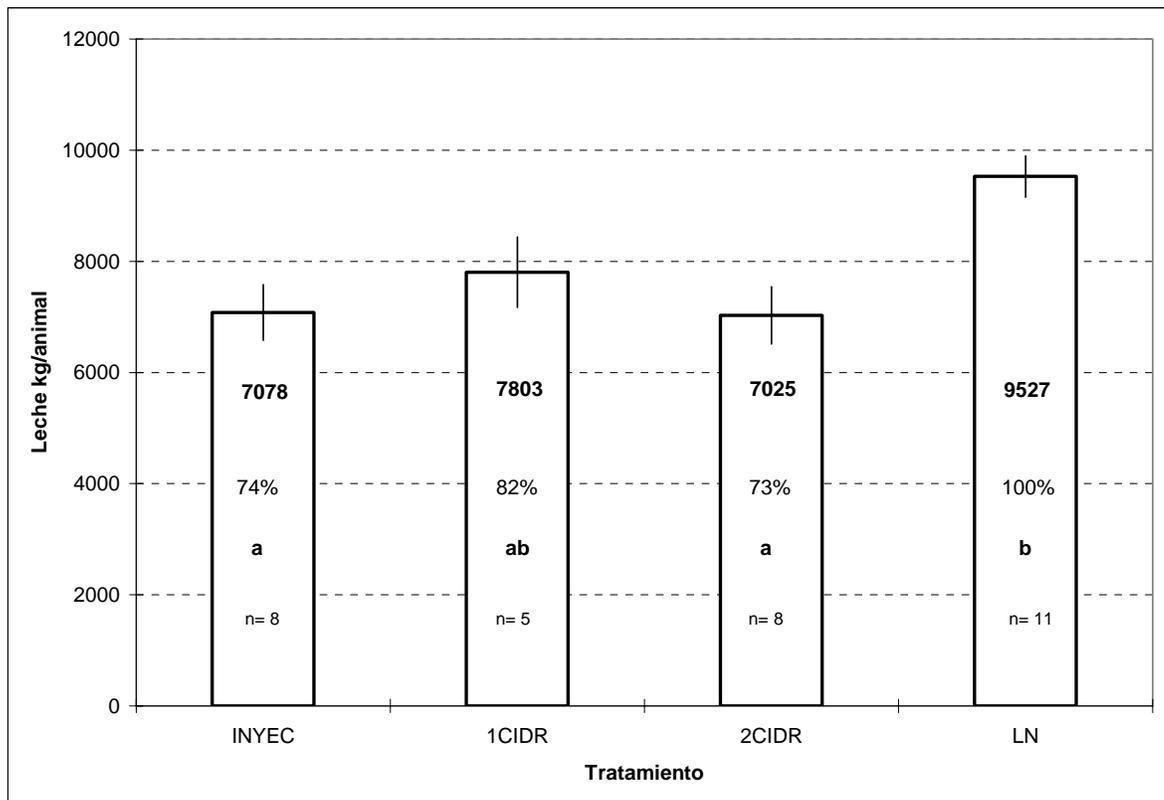


Figura 9. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la producción de leche total en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INYEC), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR). LN indica la producción de leche de las vacas y vaquillas de lactación natural. Medias ajustadas por la covariable (DEL= 369 días). ^{a, b} Distintas literales indican diferencia entre medias ($\pm ee$).

Cuadro 8. Análisis de covarianza para la producción de leche total (kg/animal) de vacas y vaquillas Holstein de lactación natural (LN) o inducida con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR)

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados tipo III	Cuadrados medios	F calculada	P>F¹
Tratamiento	3	46550203.8	15516734.6	7.69	0.0006
Días en lactación	1	155507972.3	155507972.3	77.03	<0.0001
Residual	31	62579708.5	2018700.3		
Total	35	244157275.0			

1. P> F = probabilidad de que la F calculada no sea mayor que la F teórica.

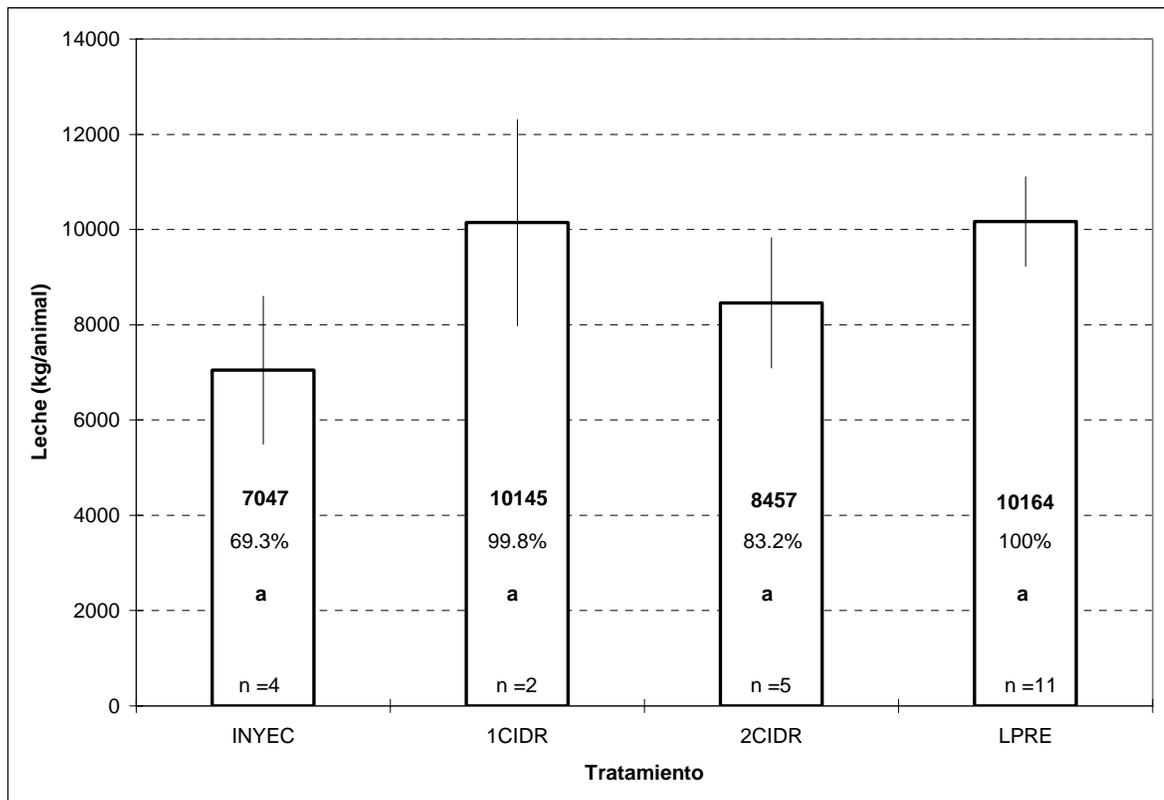


Figura 10. Comparación de la producción de leche total en vacas y vaquillas Holstein lactoinducidas, con la producción de leche total de su lactación previa (LPRE). Las variantes en el tratamiento lactoinductor fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INYEC), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR). Medias ajustadas por la covariable (DEL= 417 días). ^{a, b} Distintas literales indican diferencia entre medias ($\pm ee$).

Cuadro 9. Análisis de covarianza para la producción de leche total (kg/animal) de vacas y vaquillas Holstein inducidas a lactar con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR) y su lactación previa natural (LPRE).

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados tipo III	Cuadrados medios	F calculada	P>F¹
Tratamiento	3	30771891.6	10257297.2	1.11	0.3729
Días en lactación	1	153537900.2	153537900.2	16.60	0.0008
Residual	17	157248218.4	9249895.2		
Total	21	404152786.4			

1. P> F = probabilidad de que la F calculada no sea mayor que la F teórica

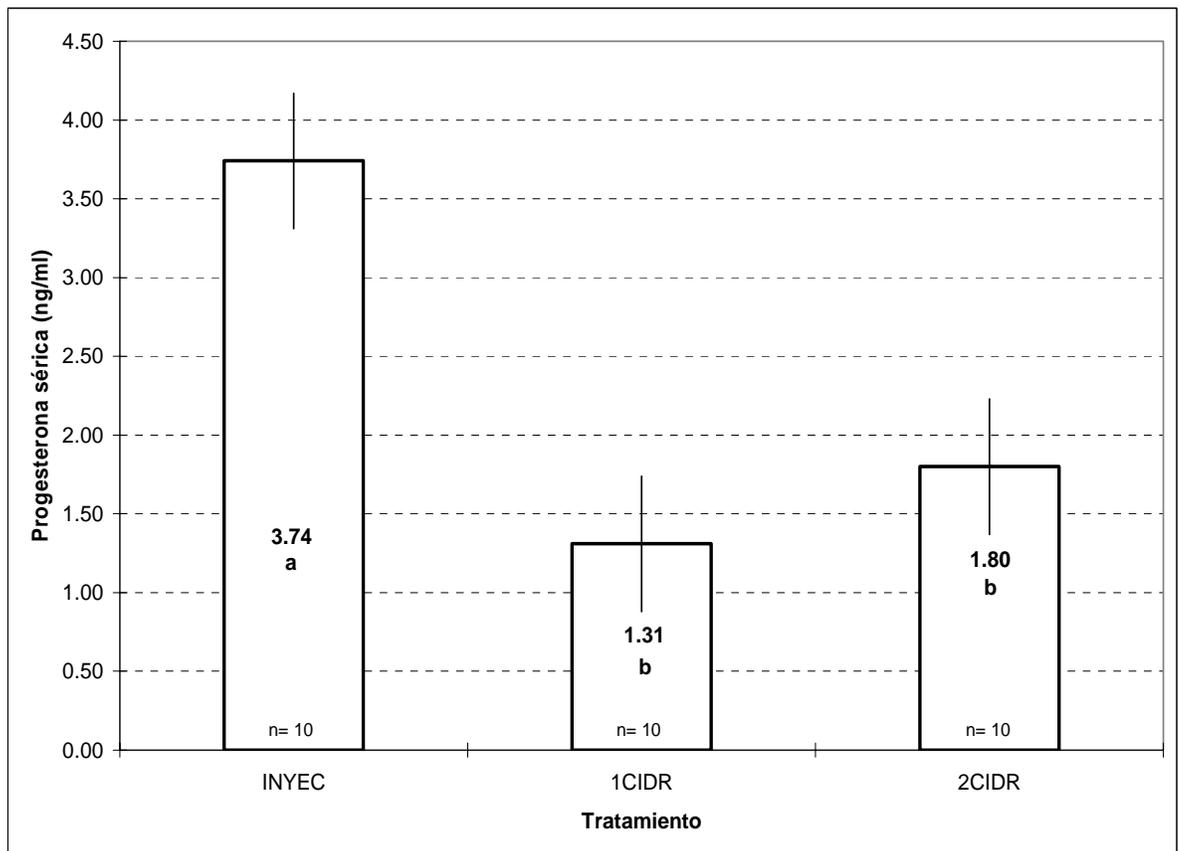


Figura 11. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la concentración de P4 en suero durante los muestreos de los días 5, 10 y 15 del tratamiento en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento lactoinductor fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INYEC), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR). ^{a, b} Distintas literales indican diferencia entre medias ($\pm ee$).

Cuadro 10. Análisis de varianza para la media de concentraciones de progesterona sérica (ng/ml) durante los días 5,10 y 15 del tratamiento de vacas y vaquillas Holstein inducidas con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR)

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados tipo III	Cuadrados medios	F calculada	P>F¹
Tratamiento	2	33.0777	16.5388	8.85	0.0011
Residual	27	50.4840	1.8697		
Total	29	83.5618			

1. P> F = probabilidad de que la F calculada no sea mayor que la F teórica.

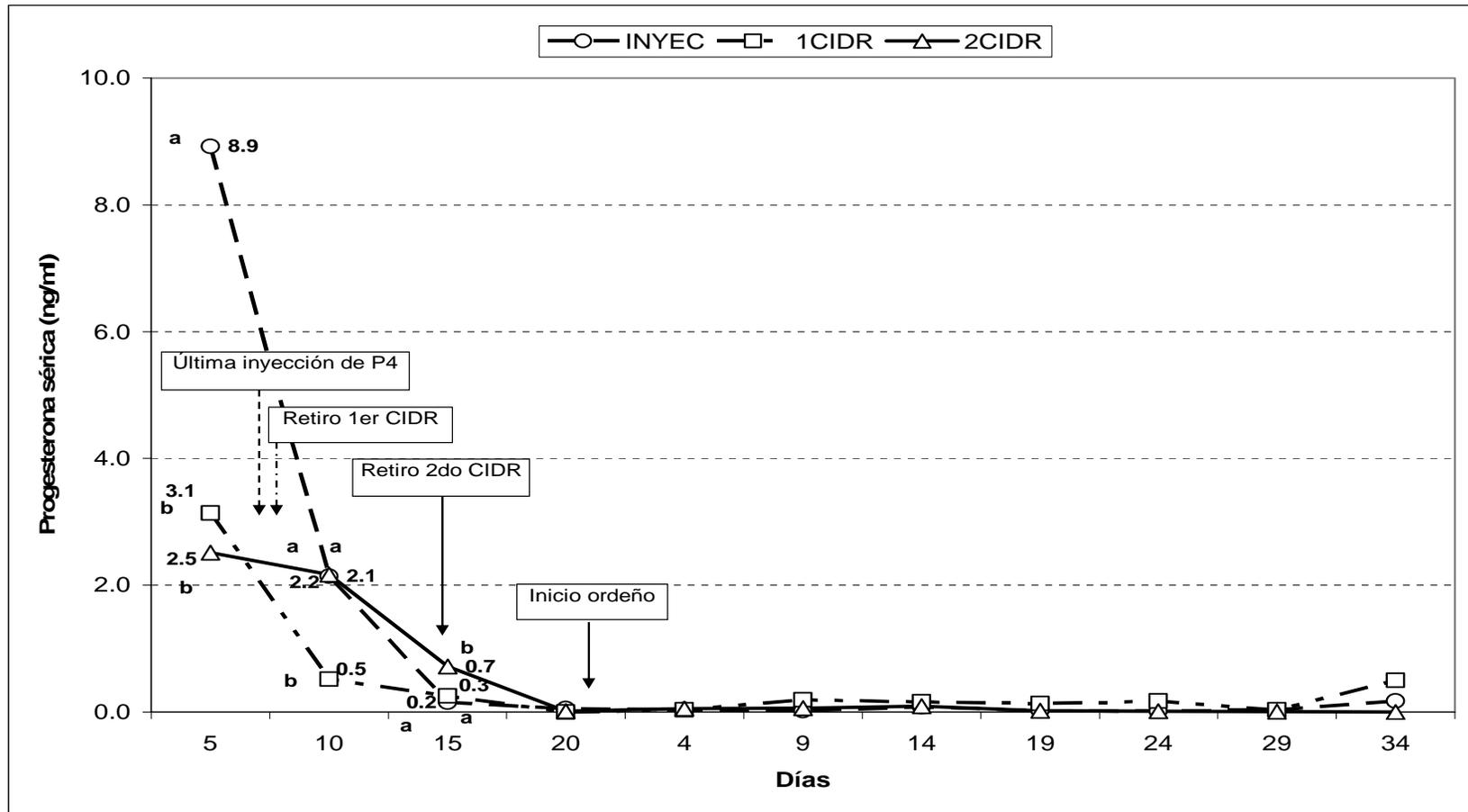


Figura 12. Efecto de un tratamiento lactoinductor en las concentraciones de P4 sérica durante la aplicación del protocolo lactoinductor y los primeros 34 días de la lactación en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INYEC, n= 10), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR, n= 10) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR, n=10). ^{a, b} Distintas literales indican diferencia entre medias ($\pm ee$).

Cuadro 11. Análisis de varianza para mediciones repetidas para la concentración de progesterona sérica (ng/ml) de vacas y vaquillas Holstein inducidas a lactar con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR)

Prueba de esfericidad					
Criterio de Mauchly	Aproximación de χ^2		Grados de libertad	P > $\chi^{2\ddagger}$	
2.158E-25	1143.652		65	<0.0001	
Prueba de efectos dentro de sujetos					
Fuente de variación	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	F calculada	P > F¹	
Muestreo ²	10	15	14.06	<0.0001	
Muestreo*Animal ^{#2}	10	15	1.21	0.3412	
Muestreo*Tratamiento ²	20	30	4.20	0.0002	
Muestreo*Animal*Tratamiento ²	20	30	0.84	0.6480	
Prueba de efectos entre sujetos					
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados tipo III	Cuadrados medios	F calculada	P > F¹
Animal ^{#3}	1	0.6700	0.6700	0.29	0.0048
Tratamiento ³	2	23.9019	11.9509	5.19	0.0134
Animal [#] *Tratamiento ³	2	1.5945	0.7972	0.35	0.7109
Residual	24	55.2711	2.3029		

†. $P > \chi^2$ = valor de la P asociada a la aproximación de χ^2 ; si es menor a 0.05, la matriz de varianzas y covarianzas es diferente a 0.

#. Animal = efecto de vaca o vaquilla.

1. $P > F$ = probabilidad de que la F calculada no sea mayor que la F teórica.

2. Estadístico = Lambda de Wilk.

3. Estos efectos se probaron con el residual como error.

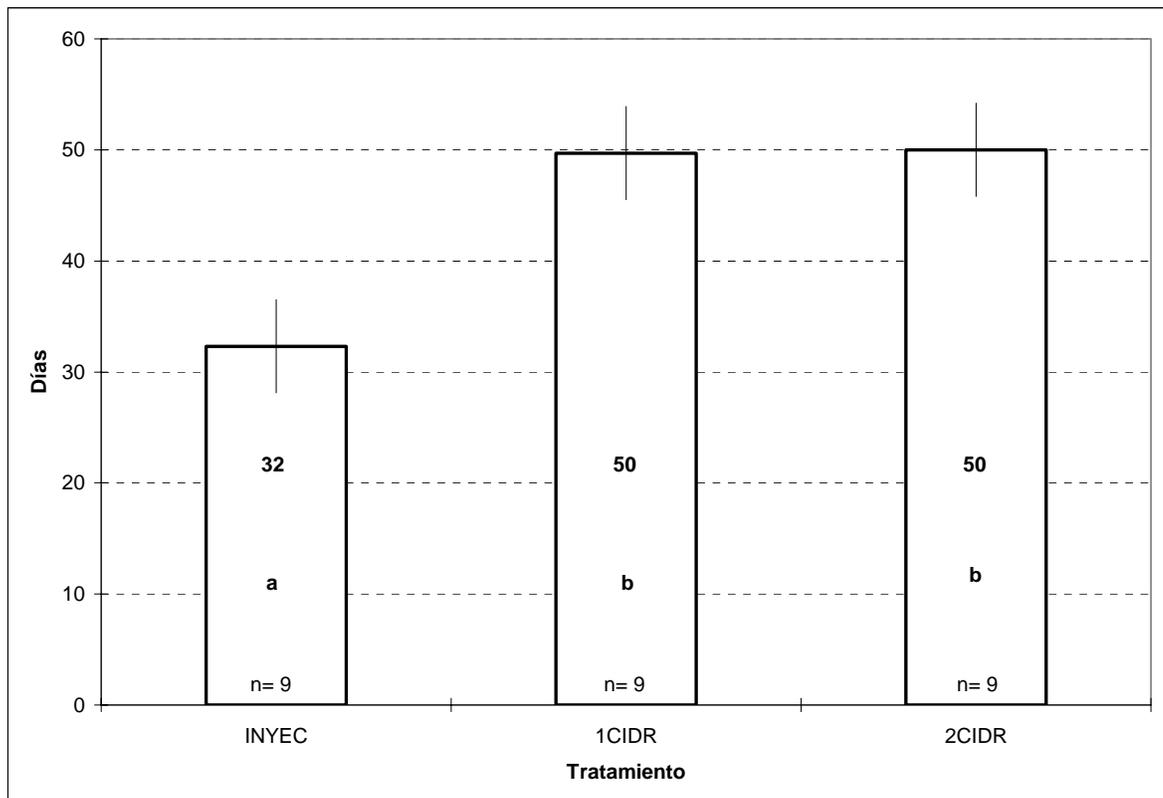


Figura 13. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la duración de la conducta de tipo estral en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INYEC), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR). ^{a, b} Distintas literales indican diferencia entre medias ($\pm ee$).

Cuadro 12. Análisis de varianza para la duración de la conducta de tipo estral (DEC) de vacas y vaquillas Holstein inducidas a lactar con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR)

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados tipo III	Cuadrados medios	F calculada	P>F¹
Tratamiento	2	1838.0000	919.0000	5.70	0.0094
Residual	24	3868.0000	161.1666		
Total	26	5706.0000			

1. P> F = probabilidad de que la F calculada no sea mayor que la F teórica.

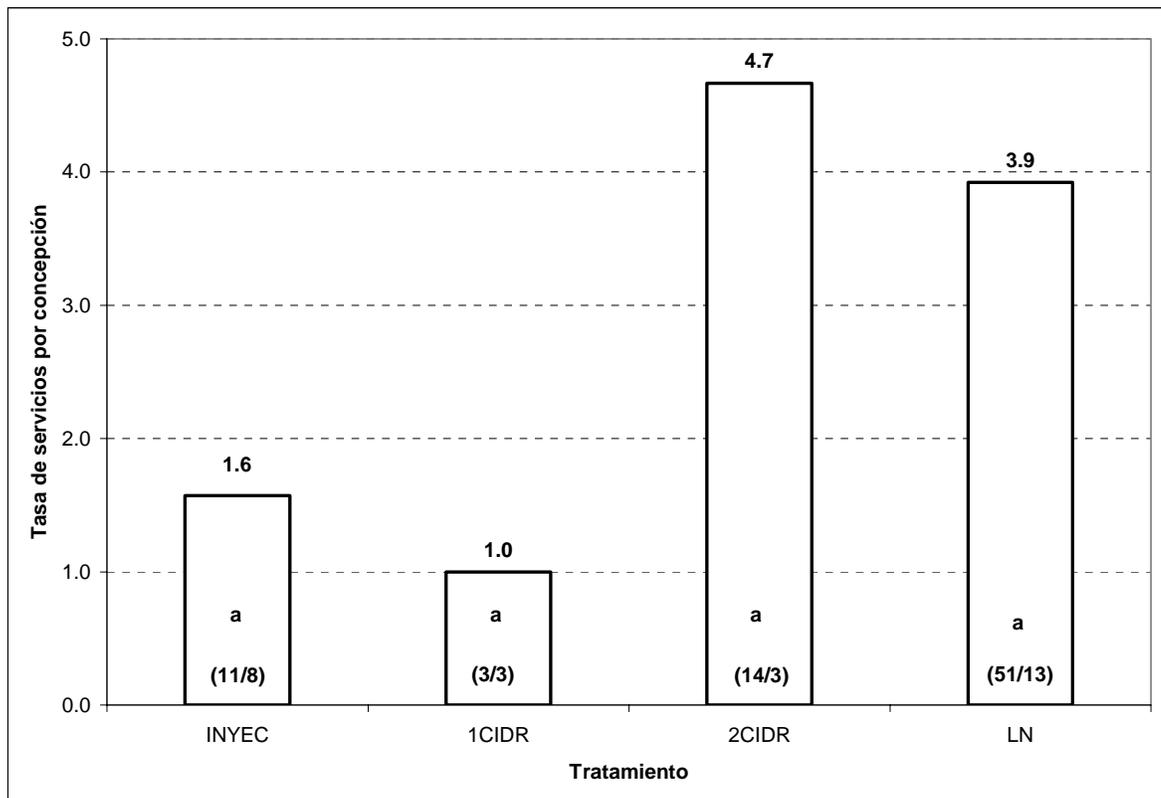


Figura 14. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la tasa de servicios por concepción en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INYEC, n= 8), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR, n= 5) o 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR, n=8). LN (n=15) indica las vacas y vaquillas de lactación natural. ^{a, b} Distintas literales indican diferencia entre tasas

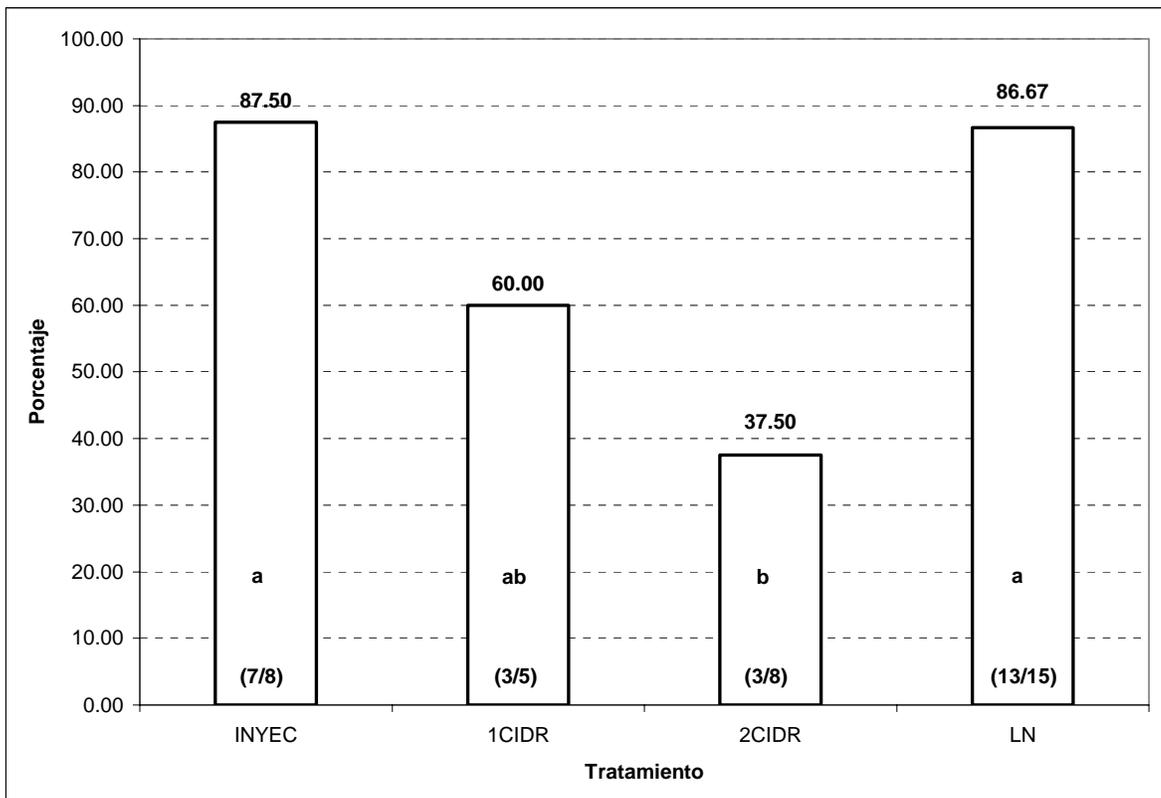


Figura 15. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la tasa de gestación en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INYEC, n= 8), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR, n= 5) o 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR, n= 8). LN (n= 15) indica las vacas y vaquillas de lactación natural. ^{a, b} Distintas literales indican diferencia entre tasas.

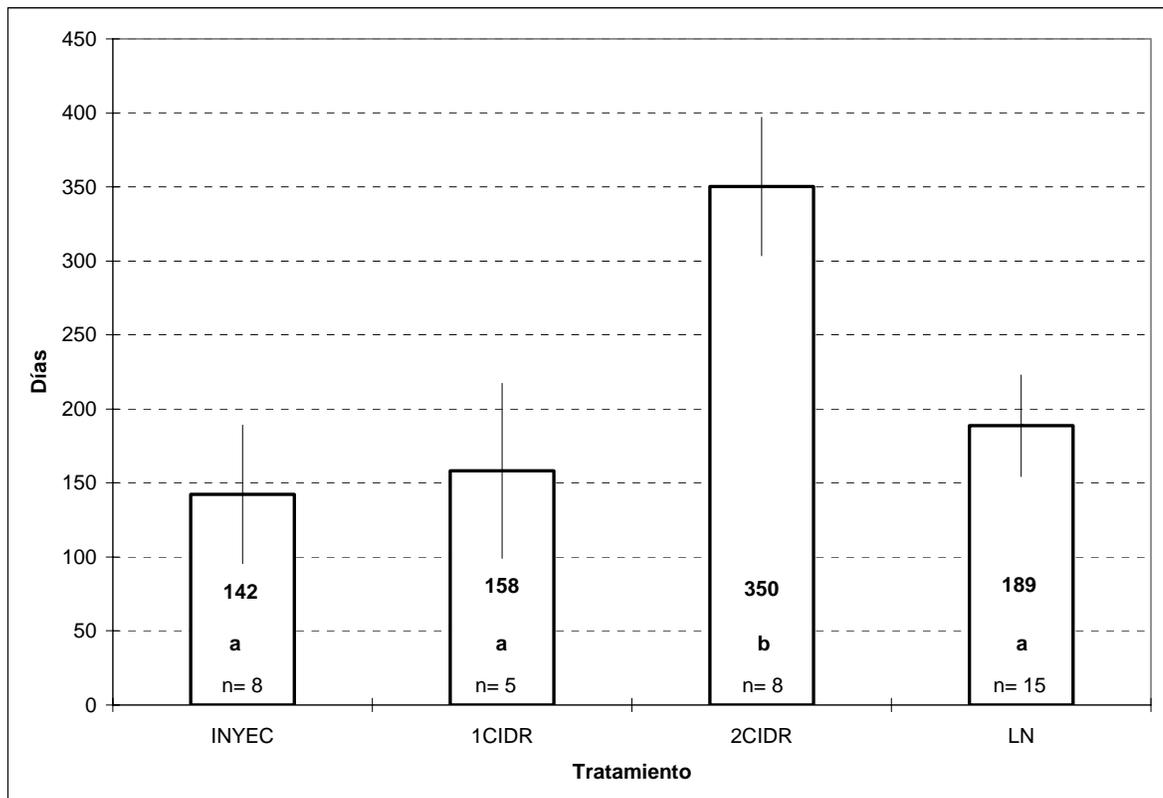


Figura 16. Efecto de un tratamiento lactoinductor en la duración del periodo abierto (DA) en vacas y vaquillas Holstein. Las variantes en el tratamiento fueron inyección diaria IM de P4 por 7 días (INYEC), P4 en CIDR que se mantuvo *in situ* por 7 días (1CIDR) o en 2 CIDR, uno a la vez durante 14 días (2CIDR). LN indica las vacas y vaquillas de lactación natural. ^{a, b} Distintas literales indican diferencia entre medias ($\pm ee$).

Cuadro 13. Análisis de varianza para los días abiertos (DA) de vacas y vaquillas Holstein de lactación natural (LN) o inducida con un tratamiento cuyas variantes fueron: progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR)

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados tipo III	Cuadrados medios	F calculada	P>F¹
Tratamiento	3	214647.1972	71549.0657	4.08	0.0146
Residual	32	561077.7750	17533.6805		
Total	35	775724.9722			

1. P> F = probabilidad de que la F calculada no sea mayor que la F teórica.

Cuadro 14. Comparación de costos de los productos hormonales empleados en un tratamiento lactoinductor. Las variantes en el tratamiento fueron progesterona aplicada mediante inyecciones (INyec), mediante un CIDR por 7 días (1CIDR) o mediante un CIDR por 7 días más un segundo CIDR los siguientes 7 días (2CIDR).

Hormona	Tratamiento		
	INyec	1CIDR	2CIDR
Progesterona	\$294.00	\$104.00	\$208.00
Cipionato de estradiol	\$921.38	\$921.38	\$921.38
Flumetasona	\$35.10	\$35.10	\$35.10
Somatotropina bovina	\$236.00	\$236.00	\$236.00
Total/vaca o vaquilla	\$1486.48	\$1296.48	\$1400.48
Ahorro	-----	12.8%	5.8%

1. Precios para ganaderos.

2. Precios actualizados al 27 de septiembre de 2006.

DISCUSIÓN

El objetivo principal del presente trabajo, fue generar información referente al empleo del CIDR como fuente de P4, dentro de un protocolo lactoinductor y sus efectos tanto en el crecimiento de la ubre como en la producción láctea de vacas y vaquillas Holstein, destinadas al desecho por problemas reproductivos. Como se esperaba, las concentraciones séricas de P4 resultantes de la liberación del CIDR fueron menores a las obtenidas mediante inyecciones diarias de P4 por vía IM.

Con relación al crecimiento mamario, se documentó que el incremento en la longitud del LU y del AU durante los 21 días en que se aplicaron los tratamientos, fue similar en todas las hembras lactoinducidas. Consecuentemente, la cantidad de P4 liberada por uno o dos CIDR en el sistema circulatorio de vacas y vaquillas, a pesar de ser menor a la lograda con inyecciones IM, fue suficiente para estimular el crecimiento mamario, en comparación con el protocolo donde la P4 fue inyectada. De acuerdo a la literatura disponible, no se encontró un trabajo en el que se compare el crecimiento de la ubre de vacas y vaquillas lactoinducidas con el de vacas de lactación natural, por lo cual falta probar si los tratamientos lactoinductores, inducen o no un crecimiento mamario similar al de LN.

En todas las variables de respuesta aquí empleadas para describir la producción de leche, las vacas y vaquillas de los tres grupos lactoinducidos fueron similares; por lo tanto, al igual que en el crecimiento mamario, la P4 liberada por un CIDR o por dos CIDR instalados de manera subsecuente, permite que las hembras Holstein lactoinducidas muestren un desempeño productivo similar al de los animales que reciben la P4 por medio de inyecciones. Hasta donde nuestro conocimiento de la literatura disponible lo permite, esta es la primera vez que se evalúan los CIDR como componentes de un protocolo para inducir la lactación, con excepción de un trabajo efectuado por Nchare *et al.* (2001), quienes lo aplicaron a becerras prepúberes; por lo que la respuesta en nivel de producción fue muy modesta con un promedio diario por animal de 509 ml de leche. Debido a los resultados previamente discutidos, el CIDR puede sustituir a las inyecciones de

P4 en los esquemas de segunda generación diseñados para inducir la lactación en vacas y vaquillas lecheras.

El efecto del estado fisiológico sobre el promedio de producción láctea y los días al pico de la lactación, era de esperarse, ya que es de conocimiento general que las vacas de primer parto tienen producciones lácteas menores a las de las vacas multíparas (Ray *et al.*, 1992; Sakaguchi *et al.*, 2004). No obstante, el presente trabajo confirma información anterior (Isidro *et al.*, 2001; Yañez, 2006) que indica una similar respuesta a tratamientos lactoinductores de vacas y vaquillas.

¿Cómo se compara la respuesta productiva a los tratamientos lactoinductores con las lactaciones naturales? En los primeros estudios, en los que se aplicaron protocolos de primera generación, no hubieron testigos y arbitrariamente se tomó como criterio de éxito o fracaso, la producción diaria o al pico de lactación de 9 kg de leche (Collier *et al.*, 1975; Collier *et al.*, 1977; Byatt *et al.*, 1997). En algunos trabajos de la primera generación (Smith y Schanbacher, 1973; Collier *et al.*, 1975; Collier *et al.*, 1976; Erb *et al.*, 1976; Chakravarty *et al.*, 1981; Davis *et al.*, 1982) y en otros de segunda generación (Isidro *et al.*, 2001) se utilizó como testigo para las vacas, la lactación natural previa a la inducida. En estos casos, en la mayoría de los trabajos la producción de leche inducida fue inferior a la de la lactación natural previa (Smith y Schanbacher, 1973; Collier *et al.*, 1976; Erb *et al.*, 1976; Davis *et al.*, 1982), pero en algunos experimentos, las lactaciones inducidas fueron superiores (Collier *et al.*, 1975) o similares (Isidro *et al.*, 2001) a las naturales que las antecedieron. En otros estudios, tal como se hizo en el presente experimento, algunos autores emplearon vacas y/o vaquillas de LN cuyo parto fue contemporáneo a la aplicación de los tratamientos lactoinductores (Erb *et al.*, 1976; Fulkerson, 1978; Peel *et al.*, 1978; Jordan *et al.*, 1981; Sawyer *et al.*, 1982; Hafliger *et al.*, 2003; Jewell, 2003; Yañez, 2006), en los cuales las lactaciones inducidas fueron inferiores. En el presente trabajo, las hembras tratadas con INYEC y 2CIDR tuvieron una producción láctea inferior a las de LN tal como en los estudios mencionados previamente; sin embargo no se observaron diferencias

entre la producción de leche total y por día de lactación entre las vacas y vaquillas de los grupos de 1CIDR y LN.

En el actual trabajo, las vacas y vaquillas lactoinducidas presentaron un perfil de la curva de lactación, distinto al de los animales de LN. Básicamente, la pendiente de ascenso es inferior en su origen y su incremento es más lento, con un día al pico de lactación más tardío en las hembras inducidas a lactar en comparación con las de LN. Otros autores notaron un comportamiento similar al aquí registrado en las curvas de lactación de los animales lactoinducidos (Jewell, 2003; Yañez, 2006). El citado comportamiento de las curvas de lactación, parece indicar que los tratamientos lactoinductores en general, evocan una lactogénesis inhibida con respecto a la provocada por los cambios fisiológicos que ocurren durante la gestación. No obstante lo anterior, en los animales del grupo 1CIDR, la curva de lactación fue aumentando lentamente y fue similar a la de los animales de LN a partir del período comprendido entre los días 91 y 120 en leche; mientras que los animales de los tratamientos INYEC y 2CIDR la curva se incrementó más lentamente, logrando ser similar a la de los animales de LN entre los días 151 y 180 de la lactación.

De la discusión sostenida en los dos párrafos previos, se derivan cuatro aspectos que merecen ser explicados; estos son: a) ¿Porqué los tratamientos de 2CIDR e INYEC usados en el presente estudio, así como otros protocolos de trabajos previos inducen un nivel de producción inferior al de LN?; b) ¿Porqué el tratamiento de 1CIDR aquí utilizado genera lactaciones de similar nivel de producción que las de animales de LN?; c) ¿Qué mecanismos fisiológicos determinan una pendiente de inicio de la curva de lactación lenta en los animales lactoinducidos con relación a los de LN?; y, finalmente d) ¿Qué fenómeno determina que la pendiente inicial de la curva de lactación inducida por el tratamiento 1CIDR se vuelva similar a la curva de animales de LN al menos 60 días antes que en los animales tratados con 2CIDR e INYEC? A continuación se discutirán los cuatro fenómenos antes mencionados.

Ha sido ampliamente documentado que los cambios en las concentraciones séricas de P4, E, PRL, GH y cortisol durante los últimos 20 a 25 días de la gestación en vacas (Mixner y Turner, 1943; Collier *et al.*, 1993; Tucker, 1994; Tucker, 2000; Hurley, 2003; Akers, 2006) y cabras (Fleet *et al.*, 1975; Tucker, 1994; Hashizume *et al.*, 1999; Khan y Ludri, 2002), determinan la diferenciación lóbulo alveolar, la síntesis de calostro (lactogénesis I) y la producción cuantiosa de leche (lactogénesis II). De las cinco hormonas implicadas en la lactación fisiológica, solo PRL no fue incluida en los protocolos empleados en el estudio aquí documentado.

Durante los primeros meses de la gestación en vacas, la P4 comienza a aumentar hasta alcanzar su máxima concentración sérica en el quinto mes de gestación (Terblanche *et al.*, 1981); en cambio, las concentraciones de estradiol comienzan a elevarse a partir del cuarto mes de la gestación, alcanzando su máximo valor un día antes del parto (Hoffmann *et al.*, 1997; Hurley, 2003; Shah *et al.*, 2006). A pesar de los hechos fisiológicos anteriores, en ninguno de los protocolos lactoinductores documentados, incluido el presente, se contempla el suministro de P4 antes de la aplicación conjunta de E más P4. Si bien, la combinación de los esteroides antes mencionados promueve el desarrollo lóbulo alveolar, la P4 sola también juega un papel importante durante la mamogénesis gestacional. En ratonas, se ha observado que durante el inicio de la gestación, la P4 promueve el alargamiento de los ductos, la ramificación y la formación de botones alveolares (Aupperlee *et al.*, 2005; Brisken, 2002). Debido a lo anterior, es posible que en las hembras bovinas lactoinducidas con los protocolos existentes, se estimule de manera incompleta el desarrollo ductal y lóbulo alveolar, y por lo tanto se reduzca la capacidad productiva de las vacas lactoinducidas durante al menos las fases de lactogénesis. Alternativamente, se debe considerar que en los protocolos de lactoinducción aquí aplicados, no se incluyó PRL, como anteriormente se afirmó. Al respecto, Keller *et al.* (1977), en vacas y vaquillas inducidas a lactar mediante un protocolo de primera generación, observaron que aquellas que respondieron exitosamente al tratamiento, las concentraciones de PRL en plasma durante el

periodo de aplicación del tratamiento y durante las 2 semanas siguientes, fueron mayores a las de las vacas que produjeron menos de 1 kg/día. Si bien, se ha observado que la PRL en vacas y cabras, no es un factor limitante para la producción de leche, dicha hormona sí afecta la cantidad producida durante las primeras semanas de la lactación (Tucker, 1994; Tucker, 2000). Con relación a este punto, Akers *et al.* (1981) observaron que la inhibición de la secreción de PRL en vacas antes del parto, disminuye la producción de leche en un 45% durante los primeros 10 días de la lactación y que posteriormente, conforme la lactación avanza, la producción se normaliza, determinando una curva de lactación similar a la de las vacas testigo y a la de los animales lactoinducidos del presente estudio. En la literatura revisada, no se ha incluido PRL en ninguno de los tratamientos lactoinductores aplicados a vacas o vaquillas. En el mejor de los casos, se ha inyectado reserpina, un inhibidor de la dopamina que induce la liberación de PRL (Collier *et al.*, 1977); sin embargo en esos estudios, no se logró un aumento del nivel de producción pero si se incrementó la proporción de vacas que respondieron al protocolo lactoinductor en comparación con los protocolos de primera generación que no incluyeron la reserpina. Tampoco la reserpina incluida en protocolos de segunda generación (Jewell, 2003; Elfego *et al.*, 2006) parece aumentar la producción láctea en comparación con la producción de animales de LN. Si bien, hay evidencias que tanto la reserpina como el estradiol aplicados como parte de un protocolo lactoinductor generan un aumento en la secreción de PRL (Collier *et al.*, 1977), es factible que dichas acciones secretagogas resulten en cantidades circulantes de PRL insuficientes para evocar una respuesta similar a la observada en animales de LN. Por lo tanto, es factible que para lograr lactaciones similares a las de LN, al menos en cuanto a la fase de lactogénesis, sea necesario aplicar PRL, lo cual no se ha efectuado por no encontrarse disponible la bPRL recombinante.

Al comparar las CP4 de los animales de los distintos tratamientos lactoinductores empleados aquí (INyec, 1CIDR y 2CIDR), se observó que éstas se mantuvieron sobre 1 ng/ml durante al menos 5 días más en las vacas y vaquillas de los

tratamientos INYEC y 2CIDR, que en las de 1CIDR. Al final de la gestación, se ha observado que la P4 en la glándula mamaria suprime los efectos del cortisol y la PRL, sobre la diferenciación citológica y enzimática de las CE, impidiendo el inicio de la lactogénesis, ya que bloquea los receptores de cortisol e inhibe la expresión de receptores para PRL (Tucker, 1994; Tucker, 2000). Por lo anterior, existe la posibilidad de que con relación a lo observado en los animales de INYEC y 2CIDR, la disminución acelerada de CP4 en los animales de 1CIDR, permitiese una acción de los glucocorticoides aplicados al final del tratamiento lactoinductor más prolongada y con ello provocara una diferenciación del tejido alveolar más rápida y un efecto positivo sobre el inicio de la lactogénesis.

En cuanto a la duración de la lactación, en el presente trabajo no hubo diferencia entre las vacas y vaquillas lactoinducidas y de LN; en contraste, los dos únicos investigadores que evaluaron lactaciones completas, encontraron que la lactación inducida es de menor duración que la LN (Isidro *et al.*, 2001; Yañez, 2006). Sin embargo, dado que dichos autores usaron un mayor número de unidades experimentales que el del presente trabajo, hacen más confiable la información que apoya el concepto de que las lactaciones inducidas tienen una menor persistencia en comparación con las naturales. Sin embargo, el presente estudio abre la posibilidad de evocar, mediante tratamientos lactoinductores, lactaciones con una persistencia mayor o al menos similar a la de las vacas de LN. Debido al reducido número de trabajos y al diseño de los mismos, no existen elementos que permitan inferir cual es el comportamiento más probable de la persistencia en los tratamientos lactoinductores, consecuentemente esta pregunta permanece sin respuesta.

Si bien, el objetivo principal de la aplicación de los protocolos lactoinductores es obtener al menos una lactación más en las vacas y al menos una lactación en vaquillas destinadas al desecho por problemas reproductivos, el efecto de la aplicación de estos protocolos sobre la reproducción de los animales tratados no puede ser menospreciado. Al igual que en algunos de los trabajos previos con protocolos lactoinductores de primera (Smith y Schanbacher, 1973; Collier *et al.*,

1975; Erb *et al.*, 1976; Chakriyarat *et al.*, 1978; Fulkerson, 1978; Jordan *et al.*, 1981; Peel *et al.*, 1981; Lembowicz *et al.*, 1982; Davis *et al.*, 1983; Sawyer *et al.*, 1986) y segunda generación (Espinosa, 2005; Valdez, 2006), en el presente trabajo, las vacas y vaquillas lactoinducidas de los tres tratamientos lactoinductores presentaron conducta de tipo estral al menos durante el primer mes de la lactación. Al respecto, Valdez (2006), demostró que en las vacas inducidas a lactar con INYEC, la actividad de tipo estral se encuentra mediada por los componentes hormonales del mismo protocolo y no por el estradiol de origen ovárico, ya que vacas ovariectomizadas mostraron perfiles séricos de estradiol y una conducta estral similar al de vacas ovariointactas. En el presente experimento las vacas y vaquillas tratadas con CIDR, presentaron signos de celo por 18 días más que las del grupo INYEC. Este efecto de los CIDR, será discutido de manera simultánea con las variables de desempeño reproductivo.

El número de trabajos en los que se empleó un protocolo lactoinductor de primera generación y se evaluó el desempeño reproductivo de las vacas y/o vaquillas lactoinducidas, es limitado y generalmente, sólo se registró la tasa de gestación, la cual fue muy variable y se registraron valores de 0 a 100% (Smith y Schanbacher, 1973; Collier *et al.*, 1975; Erb *et al.*, 1976; Fulkerson, 1978; Lembowicz *et al.*, 1982; Sawyer *et al.*, 1982). En cambio, en los trabajos de segunda generación, la evaluación del desempeño reproductivo incluyó: a) la tasa de gestación que resultó similar (Jewell, 2003) o inferior (Espinosa, 2005) en los animales lactoinducidos que en los de LN; b) la tasa de servicios por concepción registrada por Jewell (2003) y Espinosa (2005), trabajos en los que los animales requirieron un similar o inferior número de servicios para concebir, respectivamente, en comparación de los animales de LN; y c) duración del periodo abierto, que resultó ser más corto en las hembras lactoinducidas que en las de LN (Jewell, 2003), a diferencia del experimento de Espinosa (2005), donde se registró un periodo abierto de mayor duración en las vacas y vaquillas lactoinducidas que en las de LN. En el presente trabajo, los animales lactoinducidos con inyecciones IM de P4 tuvieron un desempeño reproductivo similar al de las vacas y vaquillas de LN y

superior al observado por Espinosa (2005). Por su parte, los animales tratados con 2CIDR, más no los de 1CIDR, mostraron una tasa de gestación menor y un intervalo de días abiertos más largo que los animales de LN. Por lo tanto, también los protocolos de segunda generación diseñados para lactoinducir hembras bovinas lecheras, evocan respuestas reproductivas muy variables. Este aspecto es difícil de discutir, ya que no se debe olvidar que todas las vacas y vaquillas lactoinducidas resultaron no gestantes en su último programa reproductivo; consecuentemente, si se compara el desempeño reproductivo actual, es decir durante una lactación inducida, con el anterior de ellas mismas, cuando los animales eran nulíparos o en LN, resulta muy superior el desempeño reproductivo durante la lactación inducida en casi todos los casos documentados. Por falta de información básica en el modelo de vaca lactoinducida y para evitar especulaciones, no se discutirá este aspecto. Sin embargo, si se tratará de llegar a una posible explicación al siguiente cuestionamiento: ¿Porqué los dos grupos de animales tratados con CIDR mostraron un comportamiento estral prolongado, pero solo los tratados con 2CIDR tuvieron un desempeño reproductivo inferior al de los animales de LN?

Varios investigadores han observado que aproximadamente el 50% de las vacas a las que se les aplica 30 mg/día de estradiol y 75 mg/día de progesterona durante 7 días, en la ausencia de un cuerpo lúteo funcional, desarrollan quistes foliculares (Cook *et al.*, 1990; Hamilton *et al.*, 1995; Calder *et al.*, 1999; Ward *et al.*, 2000). Entre 5 y 10 días posteriores a la formación del quiste, cerca del 60% de los animales, se recupera de esta condición de manera espontánea (Hamilton *et al.*, 1995). Sin embargo, el desarrollo de quistes foliculares incrementa la duración del periodo abierto, el número de servicios por concepción y por consecuencia el intervalo entre partos (Hamilton *et al.*, 1995; Peter, 2004). Como consecuencia, se pudieran adjudicar los resultados inferiores en cuanto a desempeño reproductivo de las vacas lactoinducidas, pero ¿los similares o inferiores con respecto a los animales de LN, cómo se explican? En dos estudios se examinaron los ovarios de las vacas lactoinducidas con el mismo protocolo empleado en el actual

experimento. En uno de ellos, efectuado con vacas altas productoras (Holstein de líneas americanas), las imágenes ultrasonográficas mostraron ovarios con un número reducido de folículos, todos ellos con un diámetro < 6 mm, sin la presencia de quistes lúteos ni foliculares (Espinosa, 2005): en contraste, Valdez (2006) en todos los ovarios examinados de vacas Holstein Friesian de relativa baja producción, detectó múltiples folículos de los cuales al menos uno por animal se desarrolló como quiste folicular; sin evidencias de quistes lúteos. Por lo tanto los modelos propuestos para inducir formación de quistes tampoco aclaran del todo las respuestas reproductivas contrastantes encontradas en animales sometidos a varios o a un mismo tratamiento lactoinductor.

En otra línea de investigación, Haughian *et al.* (2002), determinaron que una sola inyección IM de 10 mg de ECP aplicada el día 7 posparto en vacas Holstein altas productoras, en comparación con vacas que recibieron placebo, provocó un retraso de 17 días (12 vs 29 días posparto) en la emergencia de la primera oleada de desarrollo folicular, de 20 días en la primera ovulación (36 vs 56 días posparto), sin evidencias de quistes ováricos en la imagen ultrasonográfica. Aparentemente, este efecto del ECP se debió a una depresión en la liberación de FSH. Estos resultados son consistentes con los hallazgos ováricos de las vacas lactoinducidas en el trabajo de Espinosa (2005) y con el desempeño reproductivo de las vacas y vaquillas del grupo INYEC del presente, ya que a pesar de los resultados obtenidos por Haughian *et al.* (2002), relacionados con las funciones reproductivas, las vacas tratadas con ECP tuvieron un intervalo de días abiertos similar al de las vacas testigo. Por lo tanto, el desempeño reproductivo en respuesta al protocolo lactoinductor que incluye P4 inyectada por 14 días del presente estudio, parece ser explicado por el efecto de dosis farmacológicas de ECP, no obstante la respuesta a los tratamientos con CIDR no es consistente con lo antes discutido. En otro experimento dirigido por Hatler *et al.* (2003), quienes estudiaron vacas Holstein altas productoras en lactación, que presentaron quistes foliculares espontáneos; estos autores encontraron que la mayoría de los quistes (69%) se generaron cuando las concentraciones circulantes de P4 eran

intermedias (1 a 2 ng/ml) o bajas (27%; < 1 ng de P4/ml de suero). Los mismos autores proponen que la combinación de elevadas concentraciones séricas de estradiol (Dobson *et al.*, 1977; Farin *et al.*, 1992; Jeffcoat *et al.*, 1995) y las concentraciones circulantes de P4 intermedia o bajas, determina la formación de quistes y contribuye a establecer el fenómeno de reposición de quistes a lo largo del primer trimestre de la lactación.

Por lo anteriormente discutido, existe la posibilidad de que la aplicación de P4 mediante la inserción vaginal de 2CIDR y estradiol como parte de la lactoinducción, cause concentraciones circulantes de dichos esteroides que induzcan la formación de quistes foliculares, mientras que las concentraciones séricas de P4 logradas por 1CIDR o INYEC, en combinación del estradiol no evocan el desarrollo de quistes. Estas situaciones hipotéticas pudieron disminuir el desempeño reproductivo de los animales lactoinducidos con 2CIDR, sin afectar a las vacas y vaquillas que recibieron 1CIDR o INYEC. En el presente trabajo no se midieron las concentraciones de estradiol, sin embargo se sabe que las concentraciones de estradiol en el suero de las vacas a las que se les aplica cipionato de estradiol bajo el esquema aquí empleado, se mantienen por arriba de los 100 pg durante la lactoinducción y por encima de los 25 pg/ml al menos hasta el día 14 de la lactación inducida (Valdez, 2006). Entonces, los escenarios contemplados previamente son factibles y permanecen sujetos a comprobación.

CONCLUSIONES

El empleo de uno o dos CIDR que contienen P4, induce el crecimiento de la glándula mamaria de las vacas y vaquillas inducidas a lactar de manera similar al logrado por la aplicación de inyecciones IM de P4. De la misma manera, la producción de leche total y por día de la lactación en las vacas y vaquillas a las que se les aplicó uno o dos CIDR, es similar a la de los animales a los que se les aplicó P4 inyectada IM. No obstante, la producción láctea de las vacas y vaquillas a las que se les aplicó un CIDR fue similar a la de los animales de lactación natural (LN); en cambio, el uso de dos CIDR no mejoró la producción láctea de los animales tratados con un CIDR y sí indujo niveles de producción menores a los de LN. Adicionalmente, la tasa de gestación y el número de días abiertos de los animales a los que se les aplicó un CIDR fue similar al de las vacas y vaquillas a las que se les aplicó P4 inyectada IM y al de los animales de lactación natural; en cambio, dos CIDR disminuyeron el número de animales gestantes y aumentaron la duración del periodo abierto en comparación con LN.

Por lo anterior, se concluye que un CIDR puede sustituir las inyecciones de P4 en los tratamientos lactoinductores aplicados a vacas y vaquillas Holstein con problemas reproductivos.

IMPLICACIONES

El empleo de un CIDR como parte de un protocolo lactoinductor, permite obtener producciones lácteas similares a las de las vacas de lactación natural, reintegrar al hato reproductivo a más del 50% de los animales lactoinducidos y disminuir el costo de la lactoinducción; sin embargo, debido a que el número de animales fue relativamente bajo, que los resultados se obtuvieron en un solo establo y que esta es la primera vez que se documentan niveles de producción de lactancias inducidas hormonalmente similares a las de animales de lactación natural, es conveniente validar este procedimiento, antes de recomendar su uso generalizado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akers RM, Bauman DE, Goodman GT, Capuco AV and Tucker HA. Prolactin regulation of cytological differentiation of mammary epithelial cells in periparturient cows. *Endocrinology*. 1981, 109: 31-40.
2. Akers RM, McFadden TB, Purup S, Vestergaard M, Sejrsen K and Capuco AV. Local IGF-I axis in peripubertal ruminant mammary development. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2000a, 5: 43- 51.
3. Akers RM. Selection for milk production from a lactation biology viewpoint. *J Dairy Sci*. 2000b, 83:1151-1158.
4. Akers RM. Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows. *J Dairy Sci*. 2006, 89:1222-1234.
5. Aupperlee MD, Smith KT, Kariagina A and Haslam SZ. Progesterone receptor isoforms A and B: temporal and spatial differences in expression during murine mammary gland development. *Endocrinology*. 2005, 146:3577-3588.
6. Babu SD, Reddy KY, Naidu NK and Reddy KK. Changes in udder and teat measurements in artificially induced lactating crossbred cattle. *Livestock Adviser*. 1996, 21:3-8.
7. Ball S, Poison K, Emeny J, Eyestone W and Akers RM. Induced lactation in prepubertal Holstein heifers. *J Dairy Sci*. 83:2459-2463.
8. Beal WE. A note on synchronization of oestrus in post-partum cows with prostaglandin F₂α and progesterone-releasing device. *Anim Prod*. 1983, 37:305-308.
9. Berry SD, McFadden TB, Pearson RE and Akers RM. A local increase in the mammary IGF-I:IGFBP-3 ratio mediates the mammogenic effects of estrogen and growth hormone. *Domest Animal Endocrinology*. 2001, 21: 39-53.
10. Berry SDK, Jobst PM, Ellis SE, Howard RD, Capuco AV and Akers RM. Mammary epithelial proliferation and estrogen receptor α expression in prepubertal heifers: effects of ovariectomy and growth hormone. *J Dairy Sci*. 2003a, 86: 2098- 2105.

11. Berry SDK, Howard RD, Jobst PM, Lions H and Akers RM. Interaction between the ovary and local IGF-I axis modulate mammary development in prepubertal heifers. *J Endocrin.* 2003b, 177:295-304.
12. Bocchinfuso WP, Lindzey JK, Hewitt SC, Clark JA, Myers PH, Cooper R and Korachach K. Induction of mammary gland development in estrogen receptor- α knockout mice. *Endocrinology.* 2000, 141:2982-2994.
13. Boichard D. Estimation of the economic value of conception rate in dairy cattle. *Livest Prod Sci.* 1990, 24:187 En: González-Recio O, Pérez-Cabal MA and Alenda R. Economic value of female fertility and its relationship with profit in spanish dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2004; 87:3053- 3061.
14. Bridges PJ and Fortune JE. Characteristics of developing prolonged dominant follicles in cattle. *Domest Animal Endocrinology.* 2003, 25:199-214.
15. Brisken C, Heiniemann A, Chavarria T, Elenbass B, Tan J, Dey SK, McMahon JA, McMahon AP and Weinberg RA. Essential function of Wnt-4 in mammary gland development downstream of progesterone signaling. *Genes Dev.* 2000, 14: 650-654.
16. Brisken C. Hormonal control of alveolar development and its implications for breast carcinogenesis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2002, 7:39-48.
17. Brisken C and Rajaram RD. Alveolar and lactogenic differentiation. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2006, 11:239-248.
18. Byatt JC, Warren WC, Eppard PJ, Staten NR, Krivi GG and Collier RJ. Ruminant placental lactogens: structure and biology. *J Anim Sci.* 1992, 70:2911-2923.
19. Byatt JC, Sorbet RH, Eppard PJ, Curran TL, Curran DF and Collier RJ. The effect of recombinant bovine placental lactogen on induced lactation in dairy heifers. *J Dairy Sci.* 1997, 80: 496-503.
20. Calder MD, Salfen BE, Bao B, Youngquist RS and Garverick HA. Administration of progesterone to cows with ovarian follicular cyst results in a reduction in mean LH and LH pulse frequency and initiates ovulatory follicular growth. *J Anim Sci.* 1999, 77:3037-3042.

21. Capuco AV and Ellis S. Bovine mammary progenitor cells: current concepts and future directions. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2005, 10:5-15.
22. Chahine M, Weber WJ, Reneau JK, Crooker BA, Klusmeyer TH, McGrath MF, Reed EA and Vicini JL. Induction of lactation during winter and summer seasons in non-pregnant reproductive cull Holstein cows. *J Anim Sci*. 2001, 79 (Suppl.1):381
23. Chakravarty BN, Razdan MN and Pandey JN. Udder development induced lactational performance and economics of milk production following short duration estradiol-17 β and progesterone treatment in non producing crossbred cattle. *Indian J. Dairy. Sci*. 1981; 34: 27- 35.
24. Chakriyarat S, Head HH, Thatcher WW, Neal FC and Wilcox CJ. Induction of lactation: lactational, physiological, and hormonal responses in the bovine. *J Dairy Sci*. 1978, 61:1715-1724.
25. Chepko G and Smith GH. Mammary epithelial stem cells: our current understanding. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 1999, 4:35-52
26. Clarke RB, Howell A, Potten CS and Anderson E. Dissociation between steroid receptor expression and cell proliferation in the human breast. *Cancer Res*. 1997, 57:4987-4991.
27. Collier RJ, Bauman DE and Hays RL. Milk production and reproductive performance of cows hormonally induced into lactation. *J Dairy Sci*. 1975, 58:1524-1527.
28. Collier RJ, Croom WJ, Bauman DE, Hays RL and Nelson DR. Cellular studies of mammary tissue from cows hormonally induced into lactation: lactose and fatty acid synthesis. *J Dairy Sci*. 1976, 59:1226-1231.
29. Collier RJ, Bauman DE and Hays RL. Effect of reserpine on milk production and serum prolactin of cows hormonally induced into lactation. *J Dairy Sci*. 1977, 60:896-901.
30. Collier RJ, McGrath MF, Byatt JC and Zurfluh LL. Regulation of bovine mammary growth by peptide hormones: involvement of receptors, growth factors

- and binding proteins. *Livest Prod Sci.* 1993, 35: 21-33.
31. Connor EE, Wood DL, Sonstegard TS, da Mota AF, Bennett GL, Williams JL and Capuco AV. Chromosomal mapping and quantitative analysis of estrogen-related receptor alpha-1, estrogen receptors alpha and beta and progesterone receptor in the bovine mammary gland. *J Endocrin.* 2005, 185:593-603.
 32. Connor EE, Meyer MJ, Li RW, Van Amburgh ME, Boisclair YR and Capuco AV. Regulation of gene expression in the bovine mammary gland by ovarian steroids. *J Dairy Sci.* 90 (E. Suppl.):E55-E65.
 33. Cook DI, Smith CA, Parfet JR, Youngquist RS, Brown EM and Garverick HA. Fate and turnover rate of ovarian follicular cyst in dairy cattle. *J Reprod Fert.* 1990, 90:37-46.
 34. Crooker BA, Galligan DT, Weber WJ, Collier RJ, Chahine M, Klusmayer TH, McGrath MF and Vicini JL. Induced lactation – If approved, would it be economical?. *Southwest Nutrition and Management Conference Proceedings.* Arizona University, USA, pp. 152-161. 2004.
 35. Croom WJ, Collier RJ, Bauman DE and Hays RL. Cellular studies of mammary tissue from cows hormonally induced into lactation: Histology and ultrastructure. *J Dairy Sci.* 1976, 59:1232-1246.
 36. Daniel CW, Silberstein GB and Strickland P. Direct action of 17 β -estradiol on mouse mammary ducts analyzed by sustained release implants and steroid autoradiography. *Cancer Res.* 1987, 47:6052-6057.
 37. Davis SR, Welch RAS, Pearce MG and Peterson AJ. Induction of lactation in nonpregnant cows by estradiol-17 β and progesterone from intravaginal sponge. *J Dairy Sci.* 1983, 66:450-457.
 38. Davis SR and Hughson GA. Measurement of functional udder capacity in lactating Jersey cows. *Aust J Agric Res.* 1988, 39:1163-1168.
 39. Dobson H, Rankin JE and Ward WR. Bovine cystic ovarian disease: plasma hormone concentrations and treatment. *Vet Rec.* 1977, 101:459-461.
 40. Ellis SE. 1998. Mechanism controlling ductal morphogenesis in the

- ruminant mammary gland. Philosophy Doctor Thesis. Virginia Polytechnic Institute and State University. Virginia, USA.
41. Erb RE, Monk EL, Mollet TA, Malven PV and Callahan CJ. Estrogen, progesterone, prolactin and other changes associated with bovine lactation induced with estradiol-17 β and progesterone. *J Anim Sci.* 1976, 42:644-654.
 42. Erb RE, Malven PV, Monk EL, Mollet TA, Smith KL, Schanbacher FL and Willet LB. Hormone induced lactation in the cow. IV. Relationships between lactational performance and hormonal concentrations on blood plasma. *J Dairy Sci.* 1976b, 59:1420-1428.
 43. Farin PW, Youngquist RS, Parfet JR and Garverick HA. Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts in dairy cows by sector scan ultrasonography. *J Am Vet Med Assoc.* 1992, 200:1085-1089.
 44. Fendrick JL, Raafat AM and Haslam SZ. Mammary gland growth and development from the posnatal period to postmenopause: ovarian steroid receptor ontogeny and regulation in the mouse. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 1998, 3:7-22.
 45. Ferris TA and Fowgell RL. High fertility: benefits and cost. *Proc. MABC/Select Sires Dairy Breeding Seminar.* 1984.
 46. Fleet IR, Goode JA, Hamon MH, Laurie MS, Linzell L and Peaker M. Secretory activity of goats mammary glands during pregnancy and the onset of lactation. *J Physiol.* 1975, 251: 763-773.
 47. Forrest JW. 2003. Effects of varying energy intakes on mammary growth and development in prepubertal heifers. Master of Science Thesis. Virginia Polytechnic Institute and State University. Virginia, USA.
 48. Fulkerson W. Artificial induction of lactation: a comparative study in heifers. *Aust J Biol Sci.* 1978, 31:65-71.
 49. Espinosa UJ. 2005. Evaluación reproductiva de vacas y vaquillas Holstein con problemas de infertilidad, tratadas o no con progesterona al inicio de una lactación inducida hormonalmente. Tesis maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México,

D.F.

50. González-Recio O, Pérez-Cabal MA and Alenda R. Economic value of female fertility and its relationship with profit in spanish dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2004; 87:3053- 3061.
51. Gümen A and Wiltbank MC. An alteration in the hypothalamic action of estradiol due to lack of progesterone exposure can cause follicular cyst in cattle. *Biol Reprod.* 2002, 66:1689-1695.
52. Hafliger HC, Klusmeyer H, McGrath MF, Vicini JL and Crooker BA. Effects of induced lactation on milk fatty acid profiles in multiparous Holstein Cows. *J Anim Sci.* 2003, 81 (Suppl.1): M44.
53. Hamilton SA, Garverick HA, Keisler DH, Xu ZZ, Loos K, Youngquist RS and Salfen BE. Characterization of ovarian follicular cyst and associated endocrine profiles in dairy cows. *Biol Reprod.* 1995, 53:890-898.
54. Hammond J and Day FT. Oestrogen treatment of cattle: Induced lactation and other effects. *J Endocrinology.* 1944,4:53. En Meites J and Turner CW. *Studies concerning the induction and maintenance of lactation. I. The mechanism controlling the initiation of lactation at parturition.* *Mo Agr Sta Exp Res Bul.* 415. 1948.
55. Harness JR, Anderson RR, Thompson LJ, Early DM and Younis AK. Induction of lactation by two techniques: success rates, milk composition, estrogen and progesterone in serum and milk, and ovarian effects. *J Dairy Sci.* 1978, 61:1725-1735.
56. Hashizume T, Takashi Y, Numata M, Sasaki K, Ueno K, Ohtsuki K, Kawai M and Ishii A. Plasma profiles of growth hormone, prolactin and insuline-like growth factor-I during gestation, lactation and de neonatal period in goats. *J Reprod Dev.* 1999, 45:273-281.
57. Haslam SZ and Shyamala G. Progesterone receptors in normal mammary gland: receptor modulations in relation to differentiation. *J Cell Biol.* 1980, 86:730-737.
58. Hatler TB, Hayes SH, Laranja da Fonseca LF and Silvia WJ. Relationship

- between endogenous progesterone and follicular dynamics in lactating dairy cows with ovarian follicular cysts. *Biol Reprod.* 2003, 69:218-223.
59. Haughian JM, Sartori R, Guenther JM, Gümen A and Wiltbank MC. Extending the postpartum anovulatory period in dairy cattle with estradiol cypionate. *J Dairy Sci.* 2002, 85:3238-3249.
 60. Hennighausen L and Robinson GW. Signaling pathways in mammary development. *Develop Cell.* 2001, 1:467-475.
 61. Hoffmann B, Goes de Pinho T and Schuler G. Determination of free and conjugated oestrogens in peripheral blood plasma, feces and urine of cattle throughout pregnancy. *Exp Clin Endoc Diabetes.* 1997, 105:296-303.
 62. Hossner KL, Holland MD, Williams SE, Wallace CR, Niswender GD and Odde KG. Serum concentrations of insulin-like growth factors and placental lactogen during gestation in cattle. II. Maternal profiles. *Dom Anim Endoc.* 1997, 14:316-324.
 63. Hovey RC, McFadden TB and Akers RM. Regulation of mammary gland growth and morphogenesis by the mammary fat pad: a species comparison. *J Mamm Gland Biol Neop.* 1999, 4: 53- 68.
 64. Hovey RC, Davey HW, Vondehaar BK, Mackenzie DDS and McFadden TB. Paracrine action of keratinocyte growth factor (KGF) during ruminant mammary development. *Mol Cell Endoc.* 2001, 181:47-56.
 65. Hovey RC, Trott JF and Vonderhaar BK. Establishing a framework for the functional mammary gland: from endocrinology to morphology. *J Mamm Gland Biol Neop.* 2002, 7: 17-38.
 66. Hurley WL. 2003. ANSCI 308. Lactation Biology course notes. Department of Animal Sciences. University of Illinois, Urbana-Champaign, USA.
 67. Ishikawa Y, Nakada K, Hagiwara K, Kirisawa R, Iwai H, Moriyoshi M and Sawamukai Y. Changes in interleukin-6 concentration in peripheral blood pre- and post-partum dairy cattle and its relationship to postpartum reproductive diseases. *J Vet Med Sci.* 2004, 66:1403-1408.
 68. Isidro VR, Villa-Godoy A, González PE y Ruiz DR. Inducción de la

- lactancia por medios hormonales en vacas Holstein. Datos preliminares. XXV Congreso Internacional de Buiatría. Veracruz, Ver. México. Agosto 2001.
69. Jeffcoat IA and Ayliffe TR. An ultrasonographic study of bovine cystic ovarian disease and its treatment. *Vet Rec.* 1995, 136:406-410.
 70. Jewell T. 2002. Artificial induction of lactation in nonbreeder dairy cows. Master of Science Thesis. Virginia Polytechnic Institute and State University. Virginia, USA.
 71. Jordan DL, Erb RE, Malven PV, Callahan CJ and Veenhuizen EL. Artificial induction of lactation in cattle: effect of modified treatments on milk yield, fertility, and hormones in blood plasma and milk. *Theriogenology.* 1981, 16:315-329.
 72. Khan JR and Ludri RS. Hormone profile crossbred goats during the periparturient period. *Trop Anim Health Prod.* 2002, 34: 151-162.
 73. Keller HF, Chew BP, Erb RE and Malven PV. Estrogen dynamics and hormonal differences associated with lactational performance of cows induced to lactate. *J Dairy Sci.* 1977, 60:1617-1623.
 74. Kensinger RS, Graboski R and Magliaro AL. Somatotropin augments milk yields of cows induced into lactation. *J Anim Sci.* 1998, 76 (Suppl.1):210
 75. Klein LA. Treatment of agalactia in sterile cows and heifers by implantation of stilbestrol. *Univ Penn Bul.* 46 (Vet Ext Quart. 101):22. En Meites J and Turner CW. Studies concerning the induction and maintenance of lactation. I. The mechanism controlling the initiation of lactation at parturition. *Mo Agr Sta Exp Res Bul.* 415. 1948.
 76. Knight CH and Wilde CJ. Mammary cell changes during pregnancy and lactation. *Livest Prod Sci.* 1993, 35:3-19.
 77. Knight CH. The importance of cell division in udder development and lactation. *Livest Prod Sci.* 2000, 66:169-176.
 78. Knight CH. Overview of prolactin's role in farm animal lactation. *Livest Prod Sci.* 2001, 70:87-93. Knight CH. 2001,
 79. Kuiper C, Enmark E, Pelto-Huikko M, Nilson S and Gustafsson J. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci.*

- USA 1996, 93:5925-1527. En: Berry SDK, Jobst PM, Ellis SE, Howard RD, Capuco AV and Akers RM. Mammary epithelial proliferation and estrogen receptor α expression in prepubertal heifers: effects of ovariectomy and growth hormone. *J Dairy Sci.* 2003, 86: 2098- 2105.
80. LALA. El impacto social y económico de la ganadería lechera en la región lagunera. Grupo Industrial LALA, S. A. De C. V. 7ª Edición, Coahuila. 2000.
81. Lembowicz K, Rabek A and Skrzeczkowski L. Hormonal induction of lactation in the cow. *Br Vet J.* 1982, 138:203-208.
82. Lukas JM, Weber WJ, Collier RJ, Vicini JL, McGrath MF and Crooker BA. Intramammary infusion of prostaglandin E₂ (PGE) increases mammary development and milk yield of cows induced to lactate. *J Anim Sci.* 2003, 81 (Suppl.1):M43
83. Lydon JP, Sivaraman L and Connely OM. A reappraisal of progesterone action in the mammary gland. *J Mamm Gland Biol Neop.* 2000, 5:325-338.
84. Maldonado RE, Villa-Godoy A, Ruiz LF, Romano MJ, Ruiz DR, Rodríguez HK. Efecto de la reserina y la somatotropina en la inducción de la lactación de vacas lecheras. XLII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, Veracruz, Veracruz, México. Noviembre 2006.
85. Magliaro AL, Kensinger RS, Ford SA, O'Connor ML, Muller LD and Graboski R. Induced lactation in nonpregnant cows: profitability and response to bovine somatotropin. *J Dairy Sci.* 2004, 87:3290-3297.
86. McFadden Tb, Clark BA and Hovey RC. Effects of BST on udder development and milk production of cows hormonally-induced into lactation. *J Dairy Sci.* 1995, 78 (Suppl.1):203. En: Crooker BA, Galligan DT, Weber WJ, Collier RJ, Chahine M, Klusmayer TH, McGrath MF and Vicini JL. Induced lactation: If approved, would it be economical?. Southwest Nutrition and Management Conference Proceedings. Arizona University, USA, pp. 152-161. 2004.
87. Meyer MJ, Capuco AV, Boisclar Yr and Van Amburgh ME. Estrogen-dependent responses of the mammary fat pad in prepubertal dairy heifers. *J*

- Endoc. 2006a, 190:819-827.
88. Meyer MJ, Capuco AV, Ross DA, Lintault LM and Van Amburgh ME. Developmental and nutritional regulation of the prepubertal heifer mammary gland: I. Parenchyma and fat pad mass and composition. *J Dairy Sci.* 2006, 89:4289-4297.
 89. Meyer MJ, Capuco AV, Ross DA, Lintault LM and Van Amburgh ME. Developmental and nutritional regulation of the prepubertal heifer mammary gland: II. Epithelial cell proliferation, parenchymal accretion rate, and allometric growth. *J Dairy Sci.* 2006, 89:4289-4297
 90. Mixner JP and Turner CW. The mammogenic hormones of the anterior pituitary. II. The lobule-alveolar growth factor. *Mo Agr Exp. Sta., Research Bull.* 1943, 378.
 91. Mueller SO, Clark JA, Myers PH and Korach KS. Mammary gland development in adult mice requires epithelial and stromal estrogen receptor α . *Endocrinology.* 2002, 143:2357-2365.
 92. Nchare A, Salahedinne M, Desbuleux H, Sulon J, Beckers JF. Essais d'induction artificielle de la lactation chez des génisses âgées des 6 a 7 mois. *Ann Méd Vét.* 2001, 145:365-371.
 93. Neville MC, Medina D, Monks J and Hovey RC. The mammary fat pad. *J Mamm Gland Biol Neop.* 1998, 3:109-116.
 94. Orrego AJ, Delgado CA y Echevarría CL. Vida productiva y principales causas de descarte de vacas Holstein en la cuenca de Lima. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 2003; 14 (1): 68- 73.
 95. Peel CJ, Taylor JW, Robinson IB, McGowan AA, Hooley RD and Findlay JK. The importance of prolactin and the milking stimulus in the artificial induction of lactation in cows. *Aust J Biol Sci.* 1978, 31:187-195.
 96. Peter AT. An update on cystic ovarian degeneration in cattle. *Reprod Dom Anim.* 2004, 39: 1-7.
 97. Plath A, Einspanier R, Gabler C, Peters F, Sinowatz F, Gospodarowicz and Schams D. Expression and localization of members of the fibroblast growth

- factor family in the bovine mammary gland. *J Dairy Sci.* 1998, 81:2604-2613.
98. Plath-Gabler A, Gabler C, Sinowatz F, Berisha B and Schams D. The expression of the IGF family and GH receptor in the bovine mammary gland. *J Endocrin.* 2001, 168:39-48.
 99. Purup S, Sejrsen K, Foldager J and Akers RM. Effect of exogenous bovine growth hormone and ovariectomy on prepubertal mammary growth, serum hormones and acute in-vitro proliferative response of mammary explants of Holstein heifers. *J Endoc.* 1993, 139: 19-26.
 100. Purup S, Sejrsen K and Akers RM. Effect of bovine GH and ovariectomy on mammary tissue sensitivity to IGF-I in prepubertal heifers. *J Endoc.* 1995, 144:153-158.
 101. Radke BR. Profitable culling and replacement strategies. 2000. In: <http://www.wcds.afns.ualberta.ca/Proceedings/2000/Chapter20.htm>
 102. Rathbone MJ, Macmillan KL, Craig RB and Burggraaf S. Conceptual and commercially available intravaginal drug delivery systems. *Adv Drug Del Rev.* 1997, 28:363-392.
 103. Rathbone MJ, Bunt CR, Ogle CR and Burggraaf S. Reengineering of a commercially available bovine intravaginal insert (CIDR insert) containing progesterone. *J Cont Rel.* 2002, 85:105-115.
 104. Ray ED, Halbach TJ, Armstrong DV. Season and lactation number effects on milk production and reproduction of dairy cattle in Arizona. *J Dairy Sci.* 1992, 75:2976-2983.
 105. Ribadu AY, Nakada K, Moriyoshi M, Zhang WC, Tanaka Y and Nakao T. The role of LH in ACTH-induced ovarian follicular cysts in heifers. *Anim Reprod Sci.* 2000, 64:21-31.
 106. Rodríguez HK, Villa-Godoy A, González-Padilla E, Ruiz LF, Espinosa UJ, Ramírez PJS. Inducción a la lactación: uso de un dispositivo intravaginal de liberación de progesterona. Resultados preliminares. XXX Congreso Internacional de Buiatría. Puebla, Pue. México. Agosto 2005.
 107. Saji S, Jensen EV, Nilsson S, Rylander T, Warner M and Gustafsson J.

- Estrogen receptors α and β in the rodent mammary gland. Proc Natl Acad Sci, USA. 2000, 97:337-342.
108. Saji S, Sakaguchguchi H, Andersson S, Warner M and Gustafson JA. Quantitative analysis of estrogen receptor proteins in rat mammary gland. Endocrinology. 2001, 142: 3177-3186.
 109. Sakaguchi M, Sasamoto Y, Suzuki T, Takahashi Y and Yamada Y. Postpartum ovarian follicular dynamics and estrous activity in lactating dairy cows. J Dairy Sci. 2004, 87:2114-2121.
 110. Sawyer GJ, Fulkerson WJ, Martin GB and Gow C. Artificial induction of lactation in cattle: initiation of lactation and estrogen and progesterone concentrations in milk. J Dairy Sci. 1986, 69:1536-1544.
 111. SAS Institute. User's Guide: Statistics. Versión 5. SAS Institute, Cary, N.C. USA. 1985.
 112. Schams D, Kohlenberg S, Amselgruber W, Berisha B, Pfaffl and Sinowatz F. Expression and localization of oestrogen and progesterone receptors in bovine mammary gland during development, function and involution. J Endoc. 2003, 177: 305-317
 113. Sejrsen K. Relationships between nutrition, puberty and mammary development in cattle. Proc Nutr Soc. 1994, 53:103-111.
 114. Sejrsen K, Purup S, Vestegaard M, Weber MS and Knight CH. Growth hormone and mammary development. Dom Anim Endoc. 1999, 17: 117-129.
 115. Sejrsen K, Purup S, Vestergaard M and Foldager J. High body weight gain and reduced bovine mammary growth: physiological basis and implications for milk yield potential. Dom Anim Endoc. 2000, 19:93-104.
 116. Shah KD, Nakao T and Kubota H. Plasma estrone sulphate (E_1S) and estradiol- 17β ($E_2\beta$) profiles during pregnancy and their relationship with the relaxation of sacrosciatic ligament, and prediction of calving time in Holstein-Friesian cattle. Anim Reprod Sci. 2006, 95:38-53.
 117. Shyamala G, Schneider W and Guiot MC. Estrogen dependent regulation of estrogen receptor gene expression in normal mammary gland and its

- relationship to estrogenic sensitivity. *Receptor*. 1992, 2:121-128 (Abstract).
118. Shyamala G, Yang C, Cardiff RD and Dale E. Impact of progesterone receptor on cell-fate decisions during mammary gland development. *Proc Natl Acad Sci. USA*. 2000, 97:3044-3049.
 119. Shyamala G, Chou YC, Louie SG, Guzman RC, Smith GH and Nandi S. Cellular expression of estrogen and progesterone receptors in mammary glands: regulation by hormones, development and aging. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2002, 80:137-148.
 120. Silberstein GB, Van Horn K, Shyamala G and Daniel CW. Progesterone receptors in mouse mammary duct: distribution and developmental regulation. *Cell Growth Diff*. 1996, 7:945-952.
 121. Sinha NY and Tucker HA. Mammary development and pituitary prolactin level of heifers from birth to puberty and during the estrous cycle. *J Dairy Sci*. 1969, 52:507-512. En: Forrest JW. 2003. Effects of varying energy intakes on mammary growth and development in prepubertal heifers. Master of Science Thesis. Virginia Polytechnic Institute and State University. Virginia, USA.
 122. Sinowatts F, Schams D, Kölle S, Plath A, Lincoln D and Waters MJ. Cellular localization of GH receptor in the bovine mammary gland during mammogenesis, lactation and involution. *J Endoc*. 2000, 166: 503-510.
 123. Smith KL, Muir LA, Ferguson LC and Conrad HR. Selective transport of IgG1 into the mammary gland: role of estrogen and progesterone. *J Dairy Sci*. 1971, 1886-1894.
 124. Smith KL and Schanbacher FL. Hormone induced lactation in the bovine. I. Lactational performance following injections of 17 β -estradiol and progesterone. *J Dairy Sci*. 1973, 56:738-743.
 125. Smith KL and Schanbacher FL. Hormonal induced lactation in the bovine. II. Response of nulligravida heifers to modified estrogen-progesterone treatment. *J Dairy Sci*. 1974, 57:296-303.
 126. Solórzano HCW. 2005. Evaluación de la eficiencia de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (CIDR), nuevo y reutilizado, para la

- sincronización del estro en un programa reproductivo en ganado brangus. Tesis maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México, D. F.
127. Stabenfeldt GH, Osburn BI and Swing LL. Peripheral plasma progesterone levels in the cow during pregnancy and parturition. *Am J Phys.* 1970, 218:571-575.
 128. Svennersten-Sjaunja K and Olsson K. Endocrinology of milk production. *Dom Anim Endoc*, 2005, 29:241-258.
 129. Terblanche HM and Labuschagne JM. Plasma progesterone in cattle. II. Levels during the oestrus cycle, pregnancy and parturition. *J S Afr Vet Assoc.* 1981, 52:187-189.
 130. Tucker HA. Endocrinology of lactation. *Semin Perinatol.* 1979, 3:199-223 (Abstract).
 131. Tucker HA. Quantitative estimates of mammary growth during various physiological states: a review. *J Dairy Sci.* 1987, 70: 1958-1966.
 132. Tucker HA. 1994. Lactation and its hormonal control. Chapter 57. pp:1065-1098. In: *The physiology of Reproduction. Second Edition.* Ed. Knobil E and Neill JD. Raven Press. Ltd. New York. 1994.
 133. Tucker HA. Hormones, mammary growth, and lactation: a 41-year perspective. *J Dairy Sci.* 2000, 83:874-884.
 134. Turner CW. The causes of the growth and function of the udder of cattle. *Mo Agric Exp Sta Bull* 339. 1934.
 135. Turner CW, Yamamoto H and Ruppert JR. The experimental induction of growth of the cow's udder and the initiation of milk secretion. *J Dairy Sci.* 1956, 39:1717.
 136. Turner CW. The experimental induction of growth of the cow's udder and the initiation of milk secretion. *Mo Agr Exp Sta Res Bull*, 697. 1959.
 137. Vaughn KE and Vaughn K. Reasons why farmers cull cows. *Dairy Newsletter*, Nov, 1998. En Ken_Vaughn@ncsu.edu
 138. Valdez MG. 2006. Inducción de la lactación en vacas Holstein Friesian

- ovarioectomizadas y completas. Tesis maestría. Universidad nacional Autónoma de México.
139. Vandeputte-Van Mesom G, Peeters G and Lauwers H. Artificial induction of lactation by hypothalamic implantation of perphenazine in virgin goats. *J Dairy Res.* 1976, 43:9-17. En: Knight CH. Overview of prolactin's role in farm animal lactation. *Livest Prod Sci.* 2001, 70:87-93.
 140. Vega JR, Gibson CA, Skaar TC, Hadsell DL and Baumrucker CR. Insulin-like growth factor (IGF)-I and -II and IGF binding proteins in serum and mammary secretions during dry period and early lactation in dairy cows. *J Anim Sci.* 1991, 69: 2538-2547.
 141. Vitela MI, Cruz-Vázquez C y Ramos PM. Identification of culling reasons in five dairy farms of Aguascalientes, México. *Téc. Pecu. Méx.* 2004; 42 (3): 437- 444.
 142. Wagner K and Smith GH. Pregnancy and stem cell behavior. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2005, 10: 25- 36.
 143. Wallace CR. Concentration of bovine placental lactogen in dairy and beef cows across gestation. *Domest Animal Endocrinology.* 1993, 10: 67-70.
 144. Ward WR, Ribadu AY, Harvey D and Dobson H. Ultrasound and hormone profiles to monitor follicular activity in cattle after treatment with high doses of progesterone and oestradiol. *Anim Sci.* 2000, 71: 577-583.
 145. Weber MS, Purup S, Vestergaard M, Akers RM and Sejrsen K. Nutritional and somatotropin regulation of the mitogenic response of mammary cells to mammary tissue extracts. *Dom Anim Endoc.* 2000, 18:159-164.
 146. Willet LB, Smith KL and Schanbacher FL. Hormone induced lactation in the bovine. III. Dynamics of injected and endogenous hormones. *J Dairy Sci.* 1976, 59:504-414.
 147. Wiltbank MC, Gümen A and Sartori R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology.* 2002, 57: 21- 52.
 148. Woodward TL, Beal WE and Akers RM. Cell interaction in initiation of mammary epithelial proliferation by oestradiol and progesterone in prepuberal

- heifers. *J Endoc.* 1993, 136: 149-157.
149. Woodward TL, Turner JD and Akers RM. Lack of mitogenic response to EGF pituitary and ovarian hormones in bovine mammary epithelial cells. *Endocrine.* 1994, 2:529-535. En: Berry SD. Growth factor and extracellular matrix regulation on heifer mammary development. 2002. PhD. Thesis. Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, VA, USA.
150. Woodward WA, Chen MS, Behbod F and Rosen J. On mammary stem cells. *J Cell Sci.* 2005, 118:3585-3594
151. Yáñez MA. 2006. Efectos de la aplicación de progesterona durante las etapas tempranas de una lactación inducida sobre el desarrollo mamario y la producción láctea de vacas y vaquillas Holstein. Tesis maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Ajuchitlán, Querétaro.
152. Zhang D and Trudeau VL. Integration membrane and nuclear estrogen receptor signaling. *Comp Bioch Phys.* 2006, 144 (Part A):306-315.