



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

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

**FERTILIDAD EN VACAS HOLSTEIN DE PRIMER
SERVICIO TRATADAS CON bST AL MOMENTO DE LA
INSEMINACIÓN**

**T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE**

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

OSCAR ARMANDO RODRÍGUEZ CASTAÑEDA

TUTOR: Dr. JOEL HERNÁNDEZ CERÓN

COMITÉ TUTORAL: PhD. CARLOS GUTIÉRREZ AGUILAR

PhD. JAIME GALLEGOS SÁNCHEZ

CIUDAD UNIVERSITARIA, 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 Analuz, que decidió que juntos realicemos nuestros sueños. Este logro es tuyo y es sólo el inicio...

A Magdalena Castañeda y Víctor Rodríguez, ustedes dieron las bases de la persona que ahora soy...

A mis hermanos: Magdalena, Rocío, Patricia y Víctor, recuerden que siempre están en mi pensamiento y lo importantes que son para mí...

Al resto de mi familia, que de alguna u otra forma me ha ayudado a distinguir con quien se puede contar...

A mi nueva familia, porque de verdad me han hecho sentir parte de ustedes...

A mis amigos: Escocia, Kiyoyi, Chirstopher y Rafael, porque me han demostrado como es la verdadera amistad...

AGRADECIMIENTOS

- A mi *alma mater*, la Universidad Nacional Autónoma de México, porque desde hace más de 10 años ha sido mi casa y motivo de orgullo personal...
- A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, porque me abrió sus puertas y fue testigo de mi formación profesional y personal...
- Al CONACYT, ya que sin la beca otorgada no hubiera conseguido este logro...
- Al Dr. Joel Hernández por haber confiado en mí para el desarrollo de esta tesis...
- Al comité tutorial: Dr. Carlos Gutiérrez y Dr. Jaime Gallegos por sus aportaciones a este trabajo...
- A los Doctores Alejandro Villa y Teresa Sánchez por su participación y sus aportaciones a este trabajo...
- Al Dr. Oscar Ortíz, que hizo posible la realización de la fase experimental...
- A los señores Manuel, Ramiro y Leobardo, que hicieron más agradables las horas de trabajo...
- A mis compañeros del Departamento de Reproducción: Tóbele, Liliana, Alonso y Cecilia, por hacer más agradables estos dos años...
- A todos los profesores que ayudaron en mi formación...
- A los doctores Clara Murcia y Gerardo Perera por su ayuda en el trabajo de laboratorio...
- A los olvidados de Ajuchitlán: Gerardo, Eliab, Alejandro y Vicente, que me ayudaron a hacer más agradable mi estancia en ese lugar.

CONTENIDO

DEDICATORIAS	I
AGRADECIMIENTOS	II
DECLARACIÓN	III
RESUMEN	IV
ABSTRACT	V
CONTENIDO	VI
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Infertilidad en el ganado bovino lechero	3
2.1.1. Falla en la fertilización	4
2.1.1.1. Errores relacionados con la inseminación artificial	4
2.1.1.2. Alteraciones del aparato genital	5
2.1.1.3. Factores climáticos	5
2.1.1.4. Otras causas	6
2.1.2. Muerte embrionaria	7
2.1.2.1. Muerte embrionaria temprana	7
2.1.2.2. Muerte embrionaria tardía	8
2.2. Muerte embrionaria temprana	8
2.2.1. Alteraciones genéticas	9
2.2.2. Factores Ambientales	9
2.2.2.1. Disfunciones endocrinas	10
2.2.2.2. Estrés calórico	12
2.2.2.3. Alteraciones en el ambiente uterino	12
2.2.2.4. Endometritis	12
2.3. Papel de la somatotropina en la reproducción	13
2.3.1. Función de la somatotropina e IGF-I en el desarrollo folicular	13
2.3.2. Función de la somatotropina e IGF-I en el desarrollo del cuerpo lúteo	16
2.3.3. Función de la somatotropina e IGF-I en el desarrollo embrionario temprano	17
2.3.4. Función de la somatotropina e IGF-I en el reconocimiento materno de la gestación	18
2.4. Tratamiento de la infertilidad y muerte embrionaria temprana	19
2.4.1. Manejo de la falla en la concepción	19
2.4.2. Tratamientos enfocados a reducir la muerte embrionaria temprana	21
2.4.3. Uso de la bST en el tratamiento de la infertilidad	22
3. MATERIAL Y MÉTODOS	28
4. RESULTADOS	31
5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	33
6. REFERENCIAS	38

RESUMEN

RODRÍGUEZ CASTAÑEDA, OSCAR ARMANDO. Fertilidad en vacas Holstein de primer servicio tratadas con bST al momento de la inseminación (Bajo la dirección de: Dr. Joel Hernández Cerón, PhD. Carlos G. Gutiérrez Aguilar y PhD. Jaime Gallegos Sánchez).

Se ha demostrado que la bST mejora los índices de fertilidad en vacas repetidoras. Sin embargo, comparada con la vaca repetidora, la vaca de primer servicio se encuentra en otra fase productiva y metabólicamente su estado endocrino y nutricional es diferente. El presente estudio se realizó para probar si una sola inyección de bST al momento de la inseminación mejora el porcentaje de concepción en vacas de primer servicio. Para tal fin se realizó un experimento en el que se utilizaron 200 vacas Holstein de 69 ± 14 días posparto, multíparas y sin patologías reproductivas. Las vacas se asignaron al azar en dos grupos y se balancearon de acuerdo a los esquemas de sincronización utilizados en la unidad de producción (sincronización de la ovulación e inseminación a tiempo fijo, y estro natural): el grupo bST (n=100), recibió una dosis de 500 mg de bST por vía subcutánea al momento del servicio. El grupo testigo (n=100) recibió una inyección subcutánea de 2 ml de solución salina fisiológica. El efecto del tratamiento, hato, método de sincronización y paridad sobre el porcentaje de concepción se analizó mediante una prueba de Regresión Logística para variables binarias. Adicionalmente se determinaron las concentraciones séricas de IGF-I e Insulina durante 14 días posteriores a la administración de la bST, y se compararon a través de un Análisis de Varianza para mediciones repetidas. El porcentaje de concepción fue similar ($P > 0.05$) entre grupos (29 y 31%, grupos bST y testigo, respectivamente). No se encontró efecto ($P > 0.05$) del tratamiento, método de sincronización, número de días posparto, ni número de partos en el porcentaje de concepción. Los niveles séricos de IGF-I e Insulina fueron mayores ($P < 0.05$) en vacas tratadas con bST que en vacas del grupo testigo. Se concluye que una sola inyección de 500 mg de bST al momento del servicio no incrementa la fertilidad en vacas de primer servicio

Palabras clave: bST, Fertilidad, Primer servicio, IGF-I.

ABSTRACT

RODRÍGUEZ CASTAÑEDA, OSCAR ARMANDO. Fertility in first service Holstein cows treated with bST at insemination. (Directed by: Dr. Joel Hernández Cerón, PhD. Carlos G. Gutiérrez Aguilar and PhD. Jaime Gallegos Sánchez).

It has been proved that bST improves fertility rates in repeat-breeder cows. However, the first service cow is in other productive stage, and its metabolism, endocrine and nutritional status is different compared with the repeat-breeder cow. The present study was performed to test if a single bST injection at insemination improves conception rate in first service cows. In the experiment were used 200 Holstein cows with 69 ± 14 days postpartum, multiparous, and without reproductive diseases. Cows were randomly assigned in two groups and were balanced according with the synchronization protocols used in the dairy farm (synchronization of ovulation and timed artificial insemination, and natural estrous): bST group (n=100) received a single dose of 500 mg of bST subcutaneously at service. Control group (n=100) received a 2 ml physiologic saline solution injection. The effects of treatment, synchronization protocol and parity on the conception rate were analyzed through a Logistic Regression for binaries variables. Additionally, serum concentrations of IGF-I and Insulin were determined within 14 days after bST administration, and were compared through ANOVA for repeated measures. Conception rate was similar ($P > 0.05$) between groups (29 and 31%, bST and control group, respectively). There was not effect ($P > 0.05$) of treatment, synchronization protocol, parity, days in milk on the conception rate. Serum IGF-I and Insulin levels were greatest ($P < 0.05$) in bST treated cows than control. In conclusion, a single dose of 500 mg of bST at service does not increase fertility in first service cows.

Key words: bST, Fertility, First service, IGF-I.

1. INTRODUCCIÓN

La muerte embrionaria temprana es la principal causa de pérdidas de gestaciones en el bovino, siendo particularmente alta en vacas productoras de leche en sistemas de producción intensiva (Sreenan *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2004). Al respecto, se han evaluado diversas estrategias para disminuir las pérdidas embrionarias tempranas, encontrándose un aumento en la fertilidad mediante la administración de la hormona del crecimiento bovina (bST). A esta hormona se le atribuyen efectos directos o indirectos en la fertilidad, actuando en la maduración del ovocito, fertilización así como en el desarrollo embrionario temprano (De la Sota *et al.*, 1993; Morales-Roura *et al.*, 2001; Moreira *et al.*, 2002a).

De igual forma, el embrión bovino tiene receptores para la hormona del crecimiento y para el factor de crecimiento parecido a la insulina tipo I (IGF-I; Izadyar *et al.*, 2000). En condiciones *in vitro* estas hormonas favorecen la maduración del ovocito e incrementan la proporción de embriones que llegan a la etapa de blastocisto (Matsui *et al.*, 1995; Palma *et al.* 1997; Rieger *et al.*, 1998; Moreira *et al.*, 2002b).

Asimismo, se ha reportado que en vacas superovuladas el tratamiento con bST aumenta la proporción de embriones transferibles (Morales, 2000; Moreira *et al.*, 2002a). Por otra parte, se ha observado que la bST incrementa los niveles de progesterona circulante (Gallo y Block, 1991; Lucy *et al.*, 1994), lo cual podría favorecer el desarrollo embrionario temprano (Kerbler *et al.*, 1997; Mann y Lamming, 1999), así como incrementar la capacidad del embrión para enviar la señal correspondiente y se de el reconocimiento materno de la gestación, mediante la estimulación de la síntesis de interferón τ (IFN- τ ; Ko *et al.*, 1991).

Morales-Roura *et al.* (2001) propusieron que un tratamiento con bST en vacas repetidoras el día del estro, podría favorecer el desarrollo embrionario, lo cual se reflejaría en un incremento del porcentaje de concepción. En ese estudio, se observó que un tratamiento basado en una inyección de 500 mg bST al inicio del estro y una segunda inyección 10 días después, incrementa el porcentaje de concepción. Estos resultados fueron corroborados en otro estudio (Mendoza,

2000) en el cual se logró incrementar la fertilidad en vacas repetidoras con una sola inyección de bST al momento de la inseminación. Sin embargo, en este último experimento el mismo tratamiento no mejoró el porcentaje de concepción en vacas de primer servicio. En contraste, la administración de bST a vacas de primer servicio sujetas a protocolos de sincronización de la ovulación (Ovsynch) e inseminación a tiempo fijo (IATF), si ha incrementado la fertilidad (Moreira *et al.*, 2000; Moreira *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2004). Actualmente la fertilidad en las vacas de primer servicio es similar a la de las vacas consideradas tradicionalmente como infértiles (vacas repetidoras). Con frecuencia el porcentaje de concepción en la primera inseminación posparto no es mayor de 30% (Morales-Roura *et al.*, 2000; Butler, 2003). Esta situación motiva a encontrar alguna estrategia que incremente la fertilidad en vacas de primer servicio.

En el presente estudio se hipotetizó que la administración de una sola inyección de 500 mg de bST al momento de la inseminación en vacas Holstein de primer servicio mejora el porcentaje de concepción.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Infertilidad en el ganado bovino lechero

La eficiencia reproductiva en el ganado bovino especializado en la producción de leche ha disminuido durante las últimas décadas, por lo que el problema de la infertilidad se ha acentuado (López-Gatius, 2003). Este problema se ha asociado a un incremento en la producción láctea, ya que mientras ésta ha aumentado año con año, la fertilidad ha disminuido aproximadamente 1% anual (MacMillan *et al.*, 1996; Sheldon *et al.*, 2006b). Así, en los años cincuenta, la tasa de concepción a primer servicio utilizando inseminación artificial era de aproximadamente 65%, mientras que al final de los noventa disminuyó al 40% (Butler, 2000).

Sin embargo, el problema de la infertilidad no obedece a la alta producción como tal, sino a los cambios metabólicos que ocurren al producir grandes volúmenes de leche y al manejo de la alimentación durante el período periparto y a factores relacionados con la industrialización de los establos lecheros (Rodríguez *et al.*, 2005; Thatcher *et al.*, 2006), lo que ha causado un incremento en la incidencia de alteraciones durante el período posparto, las cuales tienen efectos negativos directos en la fertilidad (Chebel *et al.*, 2004), como la disminución en la eficiencia en la detección de estros y en la tasa de concepción a primer servicio (Moore y Thatcher, 2006)

Para que se lleve a cabo una gestación es necesario que ocurra una serie de procesos; primero se debe desarrollar un folículo dominante que ovule un ovocito capaz de ser fertilizado y logre desarrollarse hasta una etapa de embrión. En segundo lugar, el ambiente del útero y oviducto debe ser favorable para el transporte de gametos, la fertilización y el desarrollo embrionario. Finalmente, el cuerpo lúteo debe ser funcional durante un período suficiente (16 días) para que ocurra el reconocimiento materno de la gestación y se mantenga el resto de la gestación (Breuel *et al.*, 1993). Cuando alguno de estos eventos se altera, la gestación no ocurre o se pierde, por lo que el establecimiento de la gestación depende de una correcta sincronía del sistema de comunicación endocrina entre la madre y el embrión (Mann y Lamming, 1999).

La falla en la concepción en la vaca productora de leche puede ser de diversa etiología, siendo importante considerar que en la mayoría de los casos se involucran múltiples causas, pero se pueden resumir en dos grandes categorías: la falla en la fertilización y la muerte embrionaria.

2.1.1. Falla en la fertilización

2.1.1.1. Errores relacionados con la inseminación artificial

Las causas de falla en la concepción relacionadas con la inseminación incluyen baja eficiencia en la detección de estros, realizar la inseminación en un momento inadecuado y errores en el manejo del semen o en la técnica de inseminación.

La baja eficiencia en la detección de estros es uno de los principales problemas asociados con el manejo reproductivo en los sistemas de producción intensiva debido a que la vaca pierde una oportunidad de ser inseminada cuando se encuentra en estro y se debe esperar un ciclo estral más, con lo que la mayor pérdida en estos casos es de carácter económico (Zarco, 1990).

El momento de la inseminación es un factor determinante en el éxito reproductivo, ya que de éste depende que ocurra la fertilización, pues se relaciona directamente con la viabilidad de los gametos en el aparato reproductivo de la vaca. El error más grave es realizar la inseminación artificial tardía, ya que la vida media del ovocito es menor que la del espermatozoide, por lo que el ovocito envejece y cambia la conformación de las glicoproteínas de la zona pelúcida, perdiendo así la capacidad de bloquear la polispermia (Zarco, 1990; Zavy, 1994).

Con cierta frecuencia los inseminadores modifican la técnica de inseminación con el objeto de realizar la inseminación de una forma más práctica, sin embargo, estas modificaciones pueden ocasionar una reducción en la fertilidad, ya que se desvían de los métodos óptimos establecidos para el manejo del termo, para el manejo del semen durante su preparación y para el sitio de depósito del semen (Zarco, 1990).

2.1.1.2. Alteraciones del aparato genital

Las infecciones del aparato genital causan falla en la concepción debido a que desencadenan un ambiente uterino inadecuado para el desarrollo del ovocito o del embrión, asociándose con disminución en la tasa de concepción a primer servicio y con incremento en los días a primer servicio (Fourichon *et al.*, 2000; Xolalpa *et al.*, 2003a, 2003b; Sheldon *et al.*, 2006a).

La metritis es un proceso inflamatorio severo que involucra todas las capas del útero, clínicamente se caracteriza por pirexia, así como descargas vulvares fétidas y purulentas, frecuentemente asociado con un retraso en la involución uterina. La endometritis es la inflamación superficial del endometrio asociada con la persistencia de bacterias patógenas en el útero por más de tres semanas posparto. Clínicamente se caracteriza por la presencia de exudado purulento o mucopurulento en la vagina, causando infertilidad al momento de la infección y subfertilidad cuando la infección se resolvió (Sheldon *et al.*, 2006a, 2006b; McDougall *et al.*, 2007).

Las bacterias que con mayor frecuencia causan la endometritis son *Actinomyces pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* y *Escheriquia coli* (Sheldon *et al.*, 2006a)

En vacas clínicamente sanas, el diagnóstico de endometritis subclínica entre los días 34 y 47 posparto se asocia con una reducción en la fertilidad (Thatcher *et al.*, 2006; McDougall *et al.*, 2007).

2.1.1.3. Factores climáticos

El estrés calórico es la principal causa de infertilidad asociada al ambiente, ocurre cuando la temperatura ambiental supera los 25 °C y la humedad relativa es alta (De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Bridges *et al.*, 2005). Bajo estas condiciones la tasa de concepción puede disminuir hasta niveles del 10% (Bridges *et al.*, 2005); esto puede deberse a factores como la disminución de la expresión del estro; así como a la disminución del apetito y del consumo de materia seca, lo cual prolonga y acentúa el balance energético negativo durante el período posparto (De Rensis y

Scaramuzzi, 2003; Bridges *et al.*, 2005).

El estrés calórico reduce el grado de dominancia del folículo seleccionado y éste puede tener alterada su capacidad esteroidogénica, lo que lleva a una disminución en la concentración sanguínea de estradiol (De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Bridges *et al.*, 2005) y a un aumento en los niveles plasmáticos de progesterona (Bridges *et al.*, 2005); sin embargo, los niveles plasmáticos de progesterona pudieran estar también disminuidos, dependiendo si la exposición al estrés calórico es aguda o crónica y del estado metabólico del animal (De Rensis y Scaramuzzi, 2003). Estos cambios endocrinos reducen la actividad folicular y alteran el mecanismo de la ovulación, por lo que disminuye la calidad del ovocito y/o del embrión (De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Bridges *et al.*, 2005).

En un estudio Bridges *et al.* (2005) demostraron que la exposición *in vitro* de células foliculares bovinas a temperaturas elevadas, disminuye la secreción de estradiol y androstenediona en respuesta a gonadotropinas; sin embargo, la producción de progesterona aumentó, estos cambios sugieren que la luteinización del folículo comienza antes bajo condiciones de estrés calórico. La luteinización prematura se ha asociado a reducción en la fertilidad en vacas con folículos persistentes, sugiriendo que la diferenciación prematura del folículo puede ser responsable de la disminución en la fertilidad en vacas bajo condiciones de estrés calórico.

El estrés calórico también produce un efecto retardado, ya que la baja en la fertilidad se puede prolongar hasta el fin de la época cálida, cuando aún hay folículos que fueron dañados durante el estrés calórico agudo (De Rensis y Scaramuzzi, 2003).

2.1.1.4. Otras causas

Una causa de origen nutricional de falla en la fertilización es la inclusión de proteína cruda en la dieta en niveles superiores al 16%, lo cual ha demostrado alterar las concentraciones iónicas y el pH de las secreciones uterinas durante la fase lútea (Butler, 1998).

Además, los altos niveles de proteína en la dieta pueden resultar en altas concentraciones sanguíneas de amoníaco y/o urea. Un incremento en las concentraciones de nitrógeno ureico en plasma o leche se relaciona con disminución en la fertilidad debido al efecto tóxico de la urea en el ovocito y el embrión (Butler, 1998, 2000; Roche, 2006; Sheldon *et al.*, 2006b). Sin embargo, los niveles altos de proteína en la dieta aparentan tener una interacción con las alteraciones posparto como metritis y pérdida de condición corporal, ya que en vacas que cursan con un posparto normal, el exceso de proteína en la dieta no ha disminuido la fertilidad (Ferguson, 1996).

Otra causa de origen nutricional asociada a un incremento en las fallas reproductivas es la deficiencia de vitamina E y selenio, debido a que se estos elementos previenen o disminuyen la incidencia de retención de placenta, quistes ováricos y mastitis posparto (Ferguson, 1996; Roche, 2006).

2.1.2. Muerte embrionaria

El término muerte embrionaria se refiere a la pérdida de la gestación que ocurre durante el primer tercio de gestación, es decir, antes del final de la organogénesis; la cual ocurre, en el bovino, aproximadamente al día 42 de gestación (Inskeep y Dailey, 2005).

2.1.2.1. Muerte embrionaria temprana

La muerte embrionaria temprana es la pérdida del embrión que ocurre antes de que se lleve a cabo el reconocimiento materno de la gestación, es decir, antes del día 16-19 de la gestación y representa entre el 70 y 80% del total de las pérdidas embrionarias (Diskin y Sreenan, 1980; Roche *et al.*, 1981), por lo que se considera la principal causa de falla reproductiva (Diskin y Sreenan, 1980; Roche *et al.*, 1981; Zavy, 1994), por encima de las fallas en la fertilización.

Se ha demostrado que después de realizar una IA, el 90% de los ovocitos son fertilizados (Ayalon, 1978; Thatcher *et al.*, 1994; Mann y Lamming, 1999); sin embargo, la mayoría de los embriones (entre el 40 y 60%) mueren durante los

primeros 16 días de desarrollo (Ayalon, 1978; Diskin y Sreenan, 1980; Thatcher *et al.*, 1994; Zavy, 1994), siendo los primeros 7 días el periodo en que acontecen más pérdidas embrionarias (Ayalon, 1978; Thatcher *et al.*, 1994), por lo que la mortalidad embrionaria temprana no afecta el intervalo entre estros y la vaca aparenta nunca haber estado gestante.

El origen de la muerte embrionaria ha sido objeto de múltiples investigaciones y será revisado detalladamente en otro capítulo.

2.1.2.2. Muerte embrionaria tardía

La muerte embrionaria tardía es aquella que ocurre entre los días 16 y 42 de la gestación, es decir, posterior al reconocimiento materno de la gestación y hasta el fin de la organogénesis y representa entre el 5 y 15% de las pérdidas embrionarias (Sheldon, 1997; Mann y Lamming, 1999).

2.2. Muerte embrionaria temprana

La mortalidad embrionaria temprana representa la principal causa de pérdidas de gestaciones en el bovino siendo particularmente alta en las vacas lecheras bajo sistemas de producción intensiva (Zavy, 1994; Sreenan *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2004).

La pérdida de la gestación después del diagnóstico temprano es un factor en la disminución de la eficiencia reproductiva. Ayalon (1978) analizó varios factores potenciales y las posibles causas de mortalidad embrionaria temprana, concluyendo que la mayoría de las pérdidas ocurrieron 6 a 7 días después del estro en vacas lecheras subfértiles. Por otra parte, Dailey *et al.* (2002) postularon que la mayoría de las pérdidas embrionarias ocurren antes del día 45 de gestación.

Se ha demostrado que entre un 7 y 33% de las gestaciones en vacas lecheras en lactación se perdían entre los días 28 y 98 de la gestación (Starbuck *et al.*, 2004). Con esto se concluye que la principal causa de la infertilidad en el ganado lechero es la mortalidad embrionaria temprana, por encima de fallas en la

fertilización.

La muerte embrionaria ocurre debido a mala diferenciación celular, lo que ocasiona que el embrión retrase su desarrollo (Kerbler *et al.*, 1997; Mann y Lamming, 1999, 2001; Peterson *et al.*, 1999) y no sea capaz de enviar la señal que evite la luteólisis. Como consecuencia el cuerpo lúteo no se mantiene y la producción de progesterona disminuye (Roberts *et al.*, 1990; Kerbler *et al.*, 1997; Mann y Lamming, 1999, 2001).

En las vacas lecheras la mortalidad embrionaria temprana puede alcanzar hasta el 50% y su etiología es de origen diverso; sin embargo, las causas pueden resumirse en genéticas y ambientales. En todos los casos, la muerte embrionaria temprana se debe a una mala diferenciación celular y a un retraso en el desarrollo temprano del embrión (Peterson *et al.*, 1999).

2.2.1. Alteraciones genéticas

Las anomalías cromosómicas son un factor determinante de la fertilidad, aunque ocurren únicamente en el 7.5% de los embriones (Zavy, 1994), y pueden presentarse de forma espontánea durante la gametogénesis, fertilización, o bien, durante el desarrollo embrionario (Wilmot *et al.*, 1986; Zavy, 1994).

2.2.2. Factores ambientales

Los factores ambientales son responsables de la mayoría de los casos de muerte embrionaria temprana, entre estos factores se encuentran disfunciones endocrinas, estrés calórico, alteraciones en el ambiente uterino y endometritis (Ayalon, 1978; Thatcher *et al.*, 1994; Zavy, 1994; Hernández-Cerón y Zarco, 1998). Todos estos factores modifican el ambiente uterino, lo que afecta la fertilización, el desarrollo embrionario temprano y la implantación del embrión, disminuyendo así la sobrevivencia embrionaria (De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Sugiyama *et al.*, 2003; Bridges *et al.*, 2005).

2.2.2.1. *Disfunciones endocrinas*

Las disfunciones del cuerpo lúteo han sido las más implicadas como causa de la pérdida embrionaria temprana. Existen dos tipos de alteraciones en la función lútea: la primera consiste en acortamiento de la vida media del cuerpo lúteo, en la segunda se observa una producción baja de progesterona (Hernández-Cerón y Zarco, 1998; Mann y Lamming, 1999).

Se ha observado que las vacas con baja fertilidad tienen una función lútea anormal durante los primeros 7 días posteriores a la inseminación (Hernández-Cerón y Zarco, 1998; Mann y Lamming, 1999). Esta anomalía es común en vacas que se encuentran en balance energético negativo posparto (Hernández-Cerón y Zarco, 1998).

La progesterona estimula las funciones endometriales, el desarrollo embrionario (Mann y Lamming, 1999, 2001; Chagas e Silva *et al.*, 2002) y la secreción de IFN- τ (Kerbler *et al.*, 1997; Mann y Lamming, 1999, 2001; Chagas e Silva *et al.*, 2002), esto sugiere que altos niveles de progesterona pueden proveer un ambiente uterino adecuado para el desarrollo del embrión (Kerbler *et al.*, 1997; Mann y Lamming, 1999, 2001), por lo que la disminución en la función del cuerpo lúteo se asocia con muerte embrionaria (Hernández-Cerón y Zarco, 1998).

El IFN- τ es el principal producto de secreción del embrión durante el reconocimiento materno de la gestación (Roberts *et al.*, 1990; Kerbler *et al.*, 1997; Mann y Lamming, 1999; Spencer *et al.*, 2004a) y actúa inhibiendo la expresión de receptores endometriales a estrógenos y oxitocina, previniendo así la liberación pulsátil de prostaglandina $F_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$) inducida por la oxitocina (Martal *et al.*, 1997; Mann y Lamming, 1999, 2001; Spencer *et al.*, 2004a; Weems *et al.*, 2006), además de incrementar los receptores a progesterona (Weems *et al.*, 2006), por lo que un retraso en el desarrollo embrionario ocasiona una disminución en la secreción de IFN- τ , con la consecuente falla en la inhibición de la luteólisis y pérdida del embrión (Mann y Lamming, 1999, 2001).

La asociación de la función lútea con la falla en la concepción no solo depende del efecto de la progesterona sobre el desarrollo embrionario sino con la

falla en el reconocimiento materno de la gestación (Hernández-Cerón y Zarco, 1998; Mann y Lamming, 1999); ya que una vaca con una fase lútea corta no logra una relación adecuada de progesterona-estradiol, por lo que el mecanismo de inicio de secreción de $\text{PGF}_{2\alpha}$ es más sensible (Hernández-Cerón y Zarco, 1998).

En estas condiciones el establecimiento y mantenimiento de la gestación se encuentra doblemente en desventaja, ya que por un lado al haber menos progesterona el desarrollo embrionario es más lento y con menor capacidad de producir $\text{IFN-}\tau$ (Kerbler *et al.*, 1997; Hernández-Cerón y Zarco, 1998; Mann y Lamming, 1999, 2001). Además los mecanismos que inician la secreción de $\text{PGF}_{2\alpha}$ son más sensibles debido a que la relación progesterona-estradiol es anormal (Hernández-Cerón y Zarco, 1998).

La causa específica de la liberación prematura de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no se conoce por completo; sin embargo, en vacas con cuerpos lúteos de vida corta, aparecen en el endometrio receptores para oxitocina desde el día 5 después de la ovulación (Hernández-Cerón y Zarco, 1998).

En vacas que no han sido previamente expuestas a progesterona, el folículo preovulatorio produce poco estradiol, por lo que no se forman suficientes receptores para progesterona en el endometrio, lo que permite la aparición prematura de receptores para estradiol y oxitocina ocasionando que se libere la $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Hernández-Cerón y Zarco, 1998; Mann y Lamming, 1999). De esta forma en las vacas con fases lúteas cortas la fertilización no se afecta, sin embargo la gestación no se establece (Hernández-Cerón y Zarco, 1998).

Breuel *et al.* (1993) observaron que en las vacas con fases lúteas cortas el porcentaje de fertilización es similar al de las vacas con fases lúteas normales, lo que indica que la fertilización ocurre normalmente, sin embargo, la gestación no se establece debido a que cuando ocurre la luteólisis (día 5) el embrión no es capaz de proporcionar el mensaje para el reconocimiento materno de la gestación, lo que normalmente ocurre en el día 16.

2.2.2.2. Estrés calórico

Durante el estrés calórico ocurre una disminución en el flujo sanguíneo uterino y un incremento en la temperatura uterina. Estos cambios inhiben el desarrollo embrionario e incrementan la mortalidad embrionaria temprana. Asimismo, el estrés calórico afecta la secreción endometrial de $\text{PGF}_{2\alpha}$, ocasionando una luteólisis prematura y por ende pérdida del embrión (De Rensis y Scaramuzzi, 2003).

La temperatura ambiental alta también afecta la implantación, sin embargo, la magnitud del efecto disminuye conforme el embrión se desarrolla (De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Barros *et al.*, 2006), esto puede deberse a que un embrión de mayor tamaño tiene mayor capacidad de sobrevivir a la pérdida de una fracción de sus blastómeros que un embrión con un menor número de células, o bien, a que adquiere mecanismos de termo-protección durante el desarrollo, como es el caso de la producción de proteínas de choque calórico y glutatión (Barros *et al.*, 2006).

2.2.2.3. Alteraciones en el ambiente uterino

El ambiente intrauterino es crítico y predictivo de la fertilidad por lo que su alteración puede originar muerte embrionaria (Thatcher *et al.*, 2006).

Las bacterias Gram-positivas, comúnmente involucradas en la mastitis clínica, se asocian a muerte embrionaria debido a que desencadenan la liberación de mediadores de la inflamación y pirexia (Risco *et al.*, 1999), por lo que se considera un factor de riesgo importante para que ocurra falla reproductiva (Xolalpa *et al.*, 2003a).

2.2.2.4. Endometritis

El inicio de la endometritis se asocia con aumento en las concentraciones de progesterona, ya que esta hormona disminuye la acción del sistema inmune y el útero es más susceptible a una infección (Thatcher *et al.*, 2006).

Las infecciones uterinas causadas por bacterias Gram-negativas afectan el ciclo reproductivo alterando el intervalo entre estros y causando abortos mediante

la liberación de mediadores de la inflamación. Además, sus endotoxinas inducen la secreción de $\text{PGF}_{2\alpha}$, incrementando los niveles séricos de esta hormona lo suficiente para inducir la luteólisis (Risco *et al.*, 1999).

2.3. Papel de la somatotropina e IGF-I en la reproducción

La hormona del crecimiento o somatotropina tiene diversos efectos en el proceso reproductivo, ya sea de manera directa o a través del IGF-I (Webb *et al.*, 1994; Cole y Lucy, 1997; Lucy, 2000; Chandrashekar *et al.*, 2004) la cual es una hormona secundaria sintetizada y liberada en respuesta a la administración de bST y a la somatotropina natural (Webb *et al.*, 1994; Cole y Lucy, 1997; Bauman, 1999; Lucy, 2000). El incremento en la producción hepática de IGF-I como consecuencia de la aplicación de bST, resulta en concentraciones mayores de IGF-I periférico (Webb *et al.*, 1994; Bauman, 1999; Deaver *et al.*, 1999; Lucy, 2000; Hasler *et al.*, 2003; Chandrashekar *et al.*, 2004) y en fluido folicular (Deaver *et al.*, 1999; Lucy, 2000; Bartolome *et al.*, 2002, 2003; Hasler *et al.*, 2003).

La bST y/o el IGF-I pueden tener un efecto benéfico sobre el crecimiento folicular (Webb *et al.*, 1994; Kirby *et al.*, 1997a; Lucy, 2000; Chandrashekar *et al.*, 2004) y del ovocito (Lucy *et al.*, 1994, 1999; Rieger *et al.*, 1998; Lucy, 2000; Chandrashekar *et al.*, 2004), así como en la formación y mantenimiento del cuerpo lúteo (Lucy *et al.*, 1994, 1999), fertilización y en el desarrollo temprano del embrión (De la Sota *et al.*, 1993; Matsui *et al.*, 1995; Palma *et al.* 1997; Lucy *et al.*, 1999; Moreira *et al.*, 2002a, 2002b; Chandrashekar *et al.*, 2004) y durante el reconocimiento materno de la gestación (Watson *et al.*, 1992; Izadyar *et al.*, 2000).

Se ha descrito también, que la producción local de IGF-I tiene una importante acción paracrina a nivel ovárico (Chandrashekar *et al.*, 2004).

2.3.1. Efecto de la somatotropina e IGF-I en el desarrollo folicular

La bST modifica los patrones de desarrollo folicular (Kirby *et al.*, 1997a; Deaver *et al.*, 1999; Bartolome *et al.*, 2002; Chandrashekar *et al.*, 2004), el número de folículos ovulatorios y la producción folicular de esteroides (Gong *et al.*, 1991;

Deaver *et al.*, 1999; Chandrashekar *et al.*, 2004). Además, se ha demostrado la presencia de receptores para IGF-I en folículos ováricos, lo que indica que también favorece el desarrollo folicular (Deaver *et al.*, 1999; Bartolome *et al.*, 2002, 2003; Hasler *et al.*, 2003).

El desarrollo de folículos preantrales está regulado por factores de crecimiento producidos localmente, mientras que los folículos antrales están influenciados no solamente por factores de crecimiento locales sino también por las gonadotropinas sistémicas (Webb *et al.*, 1994; Deaver *et al.*, 1999). Así, el desarrollo de la primera oleada folicular está sincronizado por el pico preovulatorio de hormona luteinizante (LH), mientras la segunda oleada es menos dependiente de LH debido a que la atresia del folículo dominante de la primera oleada controla el desarrollo del folículo dominante de la segunda oleada (Webb *et al.*, 1994; Kirby *et al.*, 1997b).

Se sabe que el desarrollo folicular requiere de la interacción de gonadotropinas y somatotropina (Webb *et al.*, 1994; Davis *et al.*, 1996; Deaver *et al.*, 1999; Joyce *et al.*, 2000; Cushman *et al.*, 2001). Sin embargo, a pesar de que existen pocos estudios que determinen los efectos de la bST sobre la secreción de gonadotropinas en bovinos, la frecuencia de pulsos y la concentración media plasmática de LH no han sido afectadas o se han encontrado sólo cambios menores en vacas tratadas con bST (Deaver *et al.*, 1999; Joyce *et al.*, 2000), en tanto que la secreción y la concentración sérica de hormona folículo-estimulante (FSH) han disminuido (Kirby *et al.*, 1997b; Deaver *et al.*, 1999). Esto implicaría un incremento en la secreción de inhibina y/o el estradiol, que favorecen la emergencia de un sólo folículo dominante (Deaver *et al.*, 1999).

Por consecuencia, la administración de bST modifica el desarrollo folicular mediante varias vías: incrementando la producción local de IGF-I, incrementando las concentraciones sistémicas de IGF-I y/o alterando la secreción de gonadotropinas (Gong *et al.*, 1991; Deaver *et al.*, 1999; Lucy, 2000; Hasler *et al.*, 2003).

Los folículos tienen receptores para somatotropina e IGF-I en células de la

teca y de la granulosa (Lucy, 2000; Cushman *et al.*, 2001; Chandrashekar *et al.*, 2004), así la bST y el IGF-I incrementan el tamaño y número de folículos en reclutamiento (Kirby *et al.*, 1997a; Lucy *et al.*, 1997; Deaver *et al.*, 1999; Joyce *et al.*, 2000; Cushman *et al.*, 2001; Bartolome *et al.*, 2002; Hasler *et al.*, 2003) debido al incremento local y sistémico de IGF-I, que conjuntamente con las gonadotropinas modulan también la actividad mitótica (Davis *et al.*, 1996; Deaver *et al.*, 1999; Lucy, 2000).

El incremento en el reclutamiento folicular ocasionado por la bST y el IGF-I se debe a un aumento en la proporción de atresia folicular, ya que estimulan poblaciones foliculares selectivamente inhibiendo el desarrollo de folículos preovulatorios y estimulando el crecimiento de segundos folículos más grandes, de esta forma adelantan el reclutamiento de la segunda oleada folicular con un desarrollo precoz del folículo dominante (Kirby *et al.*, 1997a; Bartolome *et al.*, 2003). Una posible explicación de este fenómeno es que tanto la bST como el IGF-I aceleran el proceso de crecimiento y diferenciación de las células de la granulosa (Kirby *et al.*, 1997b).

En el folículo dominante la bST y el IGF-I aumentan la síntesis de receptores a LH en células de la granulosa (Deaver *et al.*, 1999; Joyce *et al.*, 2000; Lucy, 2000; Hasler *et al.*, 2003) y los sistemas de segundos mensajeros de las gonadotropinas (Hasler *et al.*, 2003), lo que amplifica la acción de las gonadotropinas y aumenta su capacidad esteroidogénica (Joyce *et al.*, 2000; Lucy, 2000; Hasler *et al.*, 2003), esto conduce a un mayor reclutamiento folicular (Hasler *et al.*, 2003).

El IGF-I y sus proteínas de unión (IGFBP) funcionan como factores intraováricos en la regulación del desarrollo folicular (Deaver *et al.*, 1999; Lucy, 2000; Chandrashekar *et al.*, 2004). En el líquido folicular las IGFBP funcionan secuestrando al IGF-I, disminuyendo su biodisponibilidad y neutralizando sus acciones biológicas. Se ha demostrado una disminución de las IGFBP durante el crecimiento folicular terminal, lo que incrementa la proporción de atresia folicular (Lucy, 2000; Bartolome *et al.*, 2002).

El IGF-I juega un papel importante en el crecimiento y selección del folículo dominante (Chandrashekar *et al.*, 2004), ya que de forma natural los folículos pequeños tienen concentraciones de IGF-I mayores a los folículos grandes debido a que la producción de IGF-I en células de la granulosa disminuye conforme el folículo crece; en vacas tratadas con bST, la producción de IGF-I continúa aún cuando el folículo alcanza un tamaño mayor (Cushman *et al.*, 2001).

La bST incrementa el número de folículos menores a 5 mm (Webb *et al.*, 1994; Gong *et al.*, 1991; Deaver *et al.*, 1999; Joyce *et al.*, 2000; Cushman *et al.*, 2001; Bartolome *et al.*, 2002); sin embargo, no se ha demostrado que modifique el tamaño del folículo preovulatorio o dominante (Webb *et al.*, 1994; Kirby *et al.*, 1997b; Deaver *et al.*, 1999; Bartolome *et al.*, 2002).

El número de folículos de 0.25-0.5 mm se reduce mediante la aplicación de bST, esta reducción se asocia con una disminución del índice de mitosis en las células de la granulosa; mas no se ha encontrado efecto en el número de folículos de 0.5-0.8 mm a pesar de que incrementa el índice de mitosis en estos folículos. Lo anterior indica que la bST tiene un efecto negativo sobre el crecimiento folicular en una etapa antral temprana (Joyce *et al.*, 2000; Aleixo *et al.*, 2005).

2.3.2. Efecto de la somatotropina e IGF-I en el desarrollo del cuerpo lúteo

La somatotropina y los factores de crecimiento son necesarios para el crecimiento y desarrollo del cuerpo lúteo en rumiantes (Davis *et al.*, 1996; Lucy *et al.*, 1999; Reynolds y Redmer, 1999), ya que se ha observado que animales con deficiencia de receptores a somatotropina en hígado presentan cuerpos lúteos más pequeños y fases lúteas cortas (Chase *et al.*, 1998).

De igual forma, se ha reportado que la bST favorece el desarrollo inicial del cuerpo lúteo, ya que se han encontrado cuerpos lúteos más grandes después de comenzar el tratamiento para incrementar la producción láctea, así como concentraciones más elevadas de progesterona durante los primeros 10 días del ciclo estral (Gallo y Block 1991; Lucy *et al.*, 1994, 1995; Yuan y Lucy, 1996; Deaver *et al.*, 1999; Bartolome *et al.*, 2002) por lo que hay evidencia de que la

somatotropina participa activamente en la formación del cuerpo lúteo (Deaver *et al.*, 1999; Chandrashekar *et al.*, 2004), lo cual podría favorecer el desarrollo embrionario temprano (Kerbler *et al.*, 1997; Mann y Lamming, 1999).

Las células de la teca y de la granulosa poseen receptores a bST e IGF-I y estas hormonas actúan de manera sinérgica con la LH para favorecer el desarrollo del cuerpo lúteo (Davis *et al.*, 1996; Deaver *et al.*, 1999; Joyce *et al.*, 2000; Lucy, 2000; Hasler *et al.*, 2003).

Por su parte el cuerpo lúteo también posee receptores a bST e IGF-I, por lo que estas hormonas funcionan de manera autocrina y paracrina en las células lúteas para incrementar la producción y secreción de progesterona (Davis *et al.*, 1996).

A pesar de lo anterior, la participación de la somatotropina y el IGF-I en la formación del cuerpo lúteo y la producción de progesterona no se ha definido por completo, Kirby *et al.* (1997b) no encontraron diferencia en el tamaño del cuerpo lúteo en vacas tratadas con bST, por el contrario, Jiménez-Krassel *et al.* (1999) encontraron cuerpos lúteos de menor tamaño y menores concentraciones séricas de progesterona en vacas tratadas con bST.

2.3.3. Efecto de la somatotropina e IGF-I en el desarrollo embrionario temprano

De manera natural, durante el período crítico de desarrollo embrionario, entre los días 6 y 14 posteriores a la inseminación, ocurre un incremento en las concentraciones sanguíneas de IGF-I. De esta forma, el desarrollo embrionario temprano podría estar controlado, en parte, por la somatotropina e IGF-I locales, debido a que el embrión posee receptores a estas hormonas (Watson *et al.*, 1992; Izadyar *et al.*, 2000) respondiendo a ellas *in vitro* (Izadyar *et al.*, 1997; Matsui *et al.*, 1997; Palma *et al.*, 1997). De esta forma estas hormonas favorecen la maduración del ovocito e incrementan la proporción de embriones que llegan a la etapa de blastocisto (Palma *et al.* 1997; Matsui *et al.*, 1995; Rieger *et al.*, 1998; Moreira *et al.*, 2002b).

Se ha reportado también que la bST mejora el desarrollo embrionario

temprano *in vitro* (Deaver *et al.*, 1999; Moreira *et al.*, 2002b; Hasler *et al.*, 2003) y en vacas donadoras sometidas a un tratamiento de superovulación (Moreira *et al.*, 2002a), además de mejorar la tasa de concepción en vacas receptoras después de la transferencia de embriones (Moreira *et al.*, 2002a).

Asimismo, el tratamiento con bST en un programa de transferencia de embriones aumenta la proporción de embriones transferibles en vacas repetidoras (Morales, 2000).

El IGF-I participa en el desarrollo embrionario, posiblemente como mediador de la síntesis de proteínas, estimulación rápida del transporte de aminoácidos, consumo de glucosa e induciendo la producción de IFN- τ durante el reconocimiento materno de la gestación (Ko *et al.*, 1991; Simmen *et al.*, 1993; Wathes *et al.*, 1998a), y se ha demostrado la presencia de IGF-I tanto en el líquido oviductual (Makarevich y Sirotkin, 1997), en fluidos uterinos (Wathes *et al.*, 1998a, 1998b), así como receptores para IGF-I en el embrión bovino (Watson *et al.*, 1992; Simmen *et al.*, 1993).

Las acciones autocrinas y paracrinas del IGF-I son moduladas dentro del ambiente uterino por acción de las IGFBP, las cuales son sujetas a un control local en el útero y en el embrión (Simmen *et al.*, 1993).

El IGF-I refuerza el desarrollo embrionario temprano, ya que juega un papel mitogénico importante durante el desarrollo inicial del embrión, pues incrementa la proporción de embriones en etapa de cuatro células que se desarrollan hasta la etapa de blastocisto (Sirisathien *et al.*, 2003).

2.3.4. Efecto de la somatotropina e IGF-I en el reconocimiento materno de la gestación

El IGF-I se encuentra en niveles fisiológicos en las secreciones uterinas durante el periodo previo a la implantación alcanzando niveles mayores durante el reconocimiento materno de la gestación por lo que se ha correlacionado el tamaño del embrión con la producción de este factor de crecimiento y con la producción de IFN- τ (Simmen *et al.*, 1993).

Se cree que el reconocimiento materno de la gestación es señalado por el IFN- τ , esta hormona funciona como señal luteostática que sea capaz de mantener un cuerpo lúteo funcional que provea cantidades suficientes de progesterona circulante. El IGF-I es un componente importante en las secreciones uterinas, participa en el crecimiento y diferenciación tisular, y en el útero y/o en el embrión en desarrollo inicia o amplifica la señalización del embrión del reconocimiento materno de la gestación. Se ha reportado la participación del IGF-I en el desarrollo embrionario, encontrándose que funciona en la comunicación entre la madre y el embrión. El útero y el embrión en desarrollo están sujetos a las acciones biológicas del IGF-I; su modo de acción autocrina y paracrina del IGF-I está mediado por los receptores a IGF y las IGFBP (Simmen *et al.*, 1993).

2.4. Tratamiento de la infertilidad y muerte embrionaria temprana

Existen diversos tratamientos que se han utilizado con el objetivo de mejorar la infertilidad y reducir la muerte embrionaria temprana en los hatos lecheros, todos estos incluyen desde acciones de manejo en la alimentación hasta el control hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-ovario.

2.4.1. Manejo de la falla en la concepción

Entre los diversos tratamientos utilizados, se incluye la suplementación de energía durante el periodo posparto con estimulantes de la gluconeogénesis (Miyoshi *et al.*, 2001; Butler *et al.*, 2006) para disminuir el balance energético negativo y favorecer la actividad ovárica y folicular. Otra práctica de alimentación dirigida a disminuir la falla en la concepción, es la utilización de ácidos grasos insaturados que podrían funcionar como moduladores de la secreción de PGF_{2 α} . Aparentemente la inclusión de ácido linoléico aumenta las concentraciones de sustrato de ácido araquidónico, precursor para la síntesis de PGF_{2 α} , y se ha obtenido una mejor tasa de concepción a primer servicio (Thatcher *et al.*, 2006).

En cuanto al estrés calórico, se han utilizado sistemas de enfriamiento en los corrales para reducir sus efectos negativos sobre la fertilidad (De Rensis y

Scaramuzzi, 2003).

No obstante, la mayoría de los tratamientos se han enfocado en la regulación o modificación de la actividad neuroendocrina durante el posparto. El control farmacológico del folículo, cuerpo lúteo y las funciones uterinas mediante $\text{PGF}_{2\alpha}$, gonadotropina coriónica humana (hGC) u hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y dispositivos intravaginales de liberación de progesterona, han permitido el desarrollo de esquemas que pueden resultar en una mejora en la tasa de concepción (Thatcher *et al.*, 2001).

Entre los tratamientos utilizados se encuentran el uso de progestágenos los primeros días posteriores al servicio, la aplicación de GnRH ó hCG al momento de la inseminación o dentro de los primeros 14 días posteriores al servicio, el uso de esquemas de Ovsynch e IATF, así como el uso de bST al momento de la inseminación o al inicio del tratamiento de Ovsynch (Thatcher *et al.*, 2006).

El uso de GnRH ó hCG al momento de la inseminación para elevar el índice de concepción en vacas repetidoras (Bondurant *et al.*, 1991) tiene como fundamento sincronizar la ovulación con el momento de la inseminación, prevenir problemas de ovulación retardada, mejorar el desarrollo del cuerpo lúteo (Hernández-Cerón y Morales-Roura, 2001) e inducir la formación de un cuerpo lúteo accesorio que incremente la secreción de progesterona durante la gestación temprana (Thatcher *et al.*, 2006). Este tratamiento ha tenido éxito utilizando hCG en vacas que están perdiendo condición corporal durante el periodo posparto (Santos *et al.*, 2001); sin embargo, no se ha demostrado el mismo efecto utilizando GnRH, ya que se ha asociado a una duración más corta de exposición a LH, con la inducción de un cuerpo lúteo menos responsivo a LH *in vitro* y con un menor incremento en las concentraciones plasmáticas de progesterona (Thatcher *et al.*, 2006).

Por su parte, el esquema Ovsynch tiene como objetivo realizar la IATF, con lo que elimina la necesidad de la detección de estros. Consiste en una aplicación inicial de GnRH, seguida de una dosis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ 7 días después, una segunda inyección de GnRH 48 h después de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ realizando la IATF 12 a 16 h

después de la segunda aplicación de GnRH (Moore y Thatcher, 2006). Este protocolo funciona del mismo modo utilizando GnRH ó hCG (De Rensis *et al.*, 2002), aunque se obtiene una mejor respuesta si la vaca se encuentra en la fase lútea al iniciar el tratamiento, por lo que se recomienda previamente la doble aplicación de PGF_{2α} con 14 días de diferencia (Moore y Thatcher, 2006). Así, el 80% de las vacas tendrán un folículo que ovulará con la primera aplicación de GnRH y todas tendrán un cuerpo lúteo funcional en el intervalo entre la GnRH y la PGF_{2α}, lo que reduce la incidencia de ovulación prematura antes de la segunda aplicación de GnRH. Este esquema incrementa la probabilidad de que un folículo joven ovule con la segunda aplicación de GnRH y permite la adecuada formación de un cuerpo lúteo para el mantenimiento de la gestación (Moore y Thatcher, 2006).

Recientemente se ha demostrado que la aplicación de progesterona mediante un dispositivo intravaginal al inicio del protocolo de Ovsynch, mejora la tasa de concepción (Stevenson *et al.*, 2006).

2.4.2. Tratamientos enfocados a reducir la muerte embrionaria temprana

Se ha utilizado la suplementación con progesterona para complementar la función lútea en hembras subfértiles mediante la aplicación de un dispositivo intravaginal durante 7 días iniciando el día 5 del ciclo; sin embargo, los resultados obtenidos utilizando dicho tratamiento hormonal difieren entre sí, ya que existe información en la cual se ha mejorado la fertilidad en vacas en lactación (MacMillan *et al.*, 1991) mientras que en otros estudios no se reporta ningún incremento en ésta (Van Cleff *et al.*, 1991). De igual forma, existe controversia en los resultados obtenidos con el uso de hCG. Algunos estudios reportan eficacia utilizando esta hormona al día cinco posinseminación para aumentar la tasa de concepción (Santos *et al.*; 2001); no obstante, en otros estudios no se ha encontrado efecto de la hCG ó GnRH cuando se utiliza al momento de la IA (Swanson y Young, 1990; Hernández-Cerón y Zarco, 1998), o en los días 4 ó 12 (Tefera *et al.*, 2001), 11, 14 ó 15 posteriores al servicio (Franco *et al.*, 2006). Tampoco se ha observado efecto

sobre la reducción de la mortalidad embrionaria al día 28 (Santos *et al.*, 2001), ni aumento en la tasa de concepción utilizándolo previo al protocolo de Ovsynch (Peters y Pursley, 2002).

Se ha propuesto el uso de un implante de deslorelina, el cual actúa como un agonista de GnRH, para reducir la mortalidad embrionaria, este tratamiento no ha tenido efecto cuando se comparan vacas del grupo tratado vs. grupo testigo, pero sí se encontró un efecto del tratamiento cuando se comparan vacas del grupo tratado que formaron un cuerpo lúteo accesorio con aquellas que no lo formaron (Bartolome *et al.*, 2006).

2.4.3. Uso de la bST en el tratamiento de la infertilidad

Se ha propuesto el uso de bST para mejorar la fertilidad, teniendo como finalidad inducir la síntesis y secreción hepática de IGF-I, el cual es un mediador importante en la actividad secretora del oviducto y del útero, así como en el desarrollo temprano del embrión (Hernández-Cerón y Morales-Roura, 2001).

La bST es ampliamente utilizada en la industria lechera para incrementar la producción láctea; su uso está recomendado aplicándola en dosis de 350-500 mg en vehículo de liberación prolongada cada 14 días (25-40 mg/día; Cole *et al.*, 1992) a partir del día 65-105 de lactación y hasta 21 días antes del secado (Bauman, 1999).

Los estudios en los que se ha buscado un efecto de este tratamiento sobre la eficiencia reproductiva en vacas lecheras muestran resultados opuestos. En algunos trabajos, el uso de la bST se ha asociado con una disminución en la fertilidad, afectando los principales parámetros reproductivos. Las fallas en la eficiencia reproductiva incluyen incremento en los días a primer estro detectado, días a primer servicio y días abiertos, menor tasa de concepción, aumento del intervalo entre partos (Esteban *et al.*, 1994; Cole *et al.*, 1992; Morbeck *et al.*, 1991), reducción de la expresión del estro, incremento de ovulaciones no detectadas (Morbeck *et al.*, 1991; Lefebvre y Block, 1992) así como disminución de la concentración media de LH (Schemm *et al.*, 1990; Dalton y Marcinkowski,

1994). Una explicación de los efectos negativos utilizando esta hormona, es el alargamiento y/o acentuación del balance energético negativo posparto, debido al rápido incremento en la producción de leche y al retraso en el consumo de materia seca cuando se administra en vacas en lactación (Bilby *et al.*, 1999).

Por otro lado, hay reportes que indican que el tratamiento con bST mejora la tasa de concepción en vacas inseminadas mediante esquemas de Ovsynch e IATF y en vacas inseminadas bajo el sistema de detección de estros. El mejoramiento en la tasa de concepción se ha asociado con una reducción en la mortalidad embrionaria entre los días 31 y 45 debido a que la bST acelera el desarrollo del embrión y mejora la calidad de éste (Thatcher *et al.*, 2006).

La aplicación de bST a vacas de primer servicio con un periodo de espera voluntaria de 70 días, tiene un incremento en la tasa de concepción. Esto se ha detectado utilizando hembras inseminadas mediante protocolos de inseminación a tiempo fijo o a estro detectado (Thatcher *et al.*, 2006).

Sin embargo, el efecto benéfico de la bST no es fácilmente detectable en hatos comerciales que no adaptan un sistema riguroso de IATF y que son dependientes de la detección de estros, ya que el tratamiento con bST ha demostrado reducir la expresión estral y como consecuencia retrasa la primera inseminación (Thatcher *et al.*, 2006). Por lo que los efectos de la bST sobre la reducción de la expresión estral, pueden eliminarse si se utiliza en conjunto con el esquema de Ovsynch e inseminación a tiempo fijo, que elimina la necesidad de la detección de estros y proporciona una oportunidad para evaluar los efectos de la bST sobre la fertilidad sin la interferencia de una mala detección estral.

Además, la somatotropina se ha implicado directamente en el control de la función gonadal (Hasler *et al.*, 2003), ya que la bST y/o el IGF-I participan en la secreción de LH y en la función lútea, debido a que aumenta el número de receptores a LH en células de la granulosa (Adashi *et al.*, 1985; De la Sota *et al.*, 1993). Asimismo se ha demostrado que después de la administración de bST en vacas no lactantes, hay mayores concentraciones plasmáticas de esteroides ováricos y incrementando la capacidad esteroidogénica del cuerpo lúteo y de los

foliculos ováricos (De la Sota *et al.*, 1993).

La administración de una dosis reducida (5 mg/día) de bST mejora la tasa de concepción a primer servicio (Stanisiewski *et al.*, 1992). Algunos estudios han sugerido que la reproducción mejora cuando se utilizan dosis bajas de bST, debido a que causan menor incremento en la producción láctea y no aumenta la magnitud del balance energético negativo asociado, beneficiando así al sistema reproductivo (Bilby *et al.*, 1999). La razón por la cual las dosis bajas de bST mejoran los parámetros reproductivos no es muy clara. Las acciones directas de la bST son mediadas por los receptores para la hormona del crecimiento (STr), situados en la superficie de células que responden a esta hormona (Carter-Su *et al.*, 1996). La localización principal de los STr es el hígado, donde las proteínas de unión a somatotropina incrementan la síntesis y secreción de IGF-I (Jones y Clemmons, 1995). Diversos tejidos, incluyendo el ovario y útero también expresan STr y receptores a IGF-I (IGF-Ir; Kirby *et al.*, 1996). En el ovario los STr se encuentran principalmente en el cuerpo lúteo (Lucy *et al.*, 1993), aunque otros estudios han demostrado su presencia en foliculos y ovocitos (Eckery *et al.*, 1997). El embrión joven también puede responder a bST debido a que al día 13 posee ARNm para receptores a esta hormona (Watson *et al.*, 1992). La presencia de STr en el tracto reproductivo y en el embrión, sugiere un papel importante de la somatotropina en la reproducción (Kaye, 1997).

La administración de bST incrementa la producción hepática de IGF-I, que resulta en mayores concentraciones de este factor de crecimiento a nivel sistémico y en fluido folicular (Gallo y Block, 1991; Lucy *et al.*, 1995; Bauman, 1999). La liberación de IGF-I que ocurre después del tratamiento con bST también puede participar en los efectos reproductivos de la somatotropina, ya que es un potente factor de crecimiento que controla parcialmente algunas funciones uterinas y ováricas. Los IGF-Ir se expresan durante el desarrollo del embrión. La administración de IGF-I ha demostrado estimular el desarrollo embrionario *in vitro*. Vacas en lactación que concibieron a primer servicio tienen más ARNm para IGF-I uterino comparado con hembras que tuvieron falla en la concepción. Los

principales factores determinantes de las concentraciones sanguíneas de IGF-I son la nutrición y la condición corporal, ya que se ha encontrado que vacas bien alimentadas muestran concentraciones mayores de IGF-I, mientras que vacas subalimentadas tienen concentraciones menores de este factor de crecimiento y cuerpos lúteos más pequeños. Así el incremento sanguíneo de IGF-I puede explicar la mayor incidencia de ciclicidad en vacas posparto y vaquillas prepúberes alimentadas con una cantidad suficiente de energía. El aumento de los niveles de IGF-I puede estimular las funciones ováricas y uterinas y el desarrollo embrionario temprano, causando un aumento en la fertilidad (Bilby *et al.*, 1999).

Morales (1993) observó que una inyección de 500 mg bST después de detectado el estro al momento de la inseminación artificial, y otra 10 días después, incrementaron la tasa de concepción. Estos resultados fueron corroborados en un estudio posterior (Mendoza, 2000), en el cual también se logró incrementar la fertilidad aplicando una sola dosis de 500 mg de bST al momento del servicio en vacas repetidoras. Sin embargo, en este último experimento ese mismo tratamiento no mejoró el porcentaje de concepción en vacas de primer servicio. Estos últimos resultados son similares a los obtenidos por Díaz (2004), quién utilizó 500 mg de bST al momento de la inseminación en vacas de primer servicio sincronizadas con PGF_{2α} y no encontró un efecto favorable en el porcentaje de concepción.

Judge *et al.* (1999) determinaron el efecto de la bST sobre la actividad reproductiva en vacas Holstein usando la bST según las instrucciones de la etiqueta. Así, la bST (500 mg) fue administrada cada 14 días, empezando entre los días 63 y 69 de lactación y continuando hasta aproximadamente 21 días antes del secado. No se encontró diferencia en la incidencia de falla reproductiva entre las vacas tratadas con bST y testigos en cualquier momento de la lactación, tampoco se encontró diferencia en los parámetros reproductivos entre los grupos de tratamiento en estudio, ni efecto de la bST sobre la falla reproductiva.

En otro estudio, Bilby *et al.* (1999) encontraron que el incremento en las concentraciones séricas de IGF-I en vacas tratadas con 200 y 500 mg de bST fue

similar; sin embargo, no encontraron diferencias en la tasa de concepción en vacas tratadas con bST. La dosis de 500 mg de bST es equivalente a la dosis utilizada para incrementar la producción láctea y se ha demostrado que compromete las funciones reproductivas.

Por otra parte, Mendoza (2000) aplicó un tratamiento de 500 mg de bST al momento de la inseminación, encontrando un porcentaje de concepción mayor en vacas repetidoras tratadas con bST comparadas con el grupo control. Sin embargo, no encontró diferencias en las concentraciones de progesterona en los primeros 10 días del ciclo entre ambos grupos.

Asimismo, Moreira *et al.* (2000) aplicaron un tratamiento largo con bST a los 63 ó 105 días posparto utilizando el esquema Ovsynch. Los resultados indican que este tratamiento incrementa la tasa de concepción a primer servicio cuando se inicia simultáneamente con el protocolo de Ovsynch. Además, las vacas que iniciaron el tratamiento al día 63 posparto tuvieron concentraciones plasmáticas de progesterona mayores; sin embargo, no se encontraron efectos de la bST sobre las concentraciones plasmáticas de progesterona al día 20 de gestación.

En otro estudio, Bartolome *et al.* (2002) utilizaron la bST en vacas sujetas a Ovsynch e IATF, encontrando un incremento en la tasa de concepción a primer servicio, siendo significativamente más alta cuando el intervalo entre el tratamiento con bST y el inicio de la sincronización de la ovulación fue de 1 a 3 días, comparado con el intervalo de 4 a 6 días; mientras Moreira *et al.* (2002a) encontraron que la bST aumenta el número total de ovocitos y embriones, así como el número de embriones transferibles.

La bST causa un aumento en la tasa de concepción a primer servicio en vacas servidas mediante IATF. La magnitud del aumento en la tasa de concepción es similar sin considerar si la bST se administra al inicio del protocolo de Ovsynch o al momento de la inseminación (Moreira *et al.*, 2002a). Otros estudios en los que la bST fue administrada durante el tratamiento de superovulación o al momento de la inseminación indican un efecto benéfico de la bST cuando el tratamiento se comenzó anterior a la inseminación. En ningún reporte se examinó la etapa de

desarrollo ni la calidad de los embriones recuperados, aunque experimentos *in vitro* indican que la bST y/o el IGF-I pueden reforzar el desarrollo embrionario (Moreira *et al.*, 2002b).

Santos *et al.* (2004) encontraron que el tratamiento con bST mejora la tasa de concepción, acelera el desarrollo embrionario, y mejora la calidad del embrión, en vacas inseminadas siguiendo el protocolo de Ovsynch o bajo detección del estro. Este mejoramiento en la tasa de concepción fue el resultado de la reducción de la mortalidad embrionaria entre los días 31 y 45 debido a que la bST acelera el desarrollo del embrión.

Un intervalo disminuido entre la administración de bST y el inicio de la sincronización de la ovulación tiene un efecto positivo sobre el porcentaje de concepción en vacas, esto se puede interpretar como un efecto benéfico de la bST sobre el folículo ovulatorio y/o el ovocito en vacas lecheras (Bartolome *et al.*, 2002).

La respuesta ovulatoria no varía con la administración de bST; sin embargo, el número total de ovocitos y embriones transferibles es mayor en vacas tratadas con bST y cuando ésta se usa simultáneamente con estradiol hay una interacción potencial para estimular la tasa de ovulación (Cushman *et al.*, 2001).

3. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en un rancho con un sistema de producción intensiva de leche ubicado en el municipio El Marqués, Querétaro, a 20°36' latitud norte y 100°23' longitud oeste a 1850 msnm, en una región templada con una temperatura media anual de 18.7 °C y precipitación pluvial de 548 mm anuales (García, 1988).

Se utilizaron 200 vacas Holstein multíparas de primer servicio con 69±14 días posparto. Los criterios de selección para incluir a los animales en el estudio fueron los siguientes: no tener anomalías en el aparato reproductor detectables mediante palpación rectal, no haber presentado ningún tipo de patología durante el puerperio, no tener más de 100 días posparto y no estar bajo el tratamiento rutinario de somatotropina bovina para incrementar la producción láctea.

Todas las vacas fueron alimentadas con una dieta integral, la cual se utiliza rutinariamente, variando la cantidad de acuerdo a su nivel de producción láctea; la dieta estuvo constituida de heno de alfalfa, heno de avena, ensilado de maíz, maíz rolo, sorgo, semilla de algodón, además de una premezcla mineral. La producción de leche anual es de 10000 kg/vaca en promedio.

Las vacas se asignaron al azar en dos grupos al momento del servicio quedando de la siguiente forma: el grupo bST (n=100), recibió una dosis de 500 mg de bST de liberación sostenida (Boostin®-S (rBST), Schering-Plough División Veterinaria®) al momento del servicio mediante una inyección subcutánea en la fosa isquiorrectal; y el grupo testigo (n=100), recibió una inyección subcutánea de solución salina fisiológica en el mismo sitio. Con el fin de balancear los grupos de acuerdo a los esquemas de sincronización utilizados en la unidad de producción en cada grupo se incluyeron 35 vacas inseminadas con el protocolo Ovsynch y 65 observadas en estro natural e inseminadas bajo el esquema am-pm/pm-am (Cuadro 1).

Cuadro 1. Distribución y número de animales por grupo y método de sincronización.

Grupo	Método de sincronización		n
	Ovsynch	Estro observado	
Grupo bST	35	65	100
Grupo Testigo	35	65	100
Total	70	130	200

La inseminación artificial se realizó en vacas sincronizadas mediante el esquema Ovsynch, así como en vacas que fueron observadas en estro natural bajo el esquema am-pm/pm-am. En todos los casos, la inseminación se llevó a cabo de acuerdo con los siguientes criterios: presencia de tono uterino, de moco cervical y de un folículo pre-ovulatorio.

El diagnóstico de gestación se realizó mediante palpación rectal a los 40 días posteriores al servicio.

Se tomaron muestras de sangre a siete vacas de cada grupo, tres sincronizadas e inseminadas mediante el esquema Ovsynch y cuatro inseminadas a partir de la detección del estro natural. El muestreo inició al momento de la aplicación de la bST (día 0) y continuó cada 24 horas durante 14 días. La toma de muestras se realizó mediante punción caudal utilizando tubos al vacío (BD Vacutainer®, Becton, Dickinson and Company®) sin anticoagulante. Una vez obtenidas las muestras, éstas se centrifugaron a 1500 xg. durante 30 minutos, el suero obtenido fue transferido utilizando pipetas Pasteur a tubos de plástico para su conservación a -20°C hasta su análisis. El diseño experimental se muestra en la figura 1.

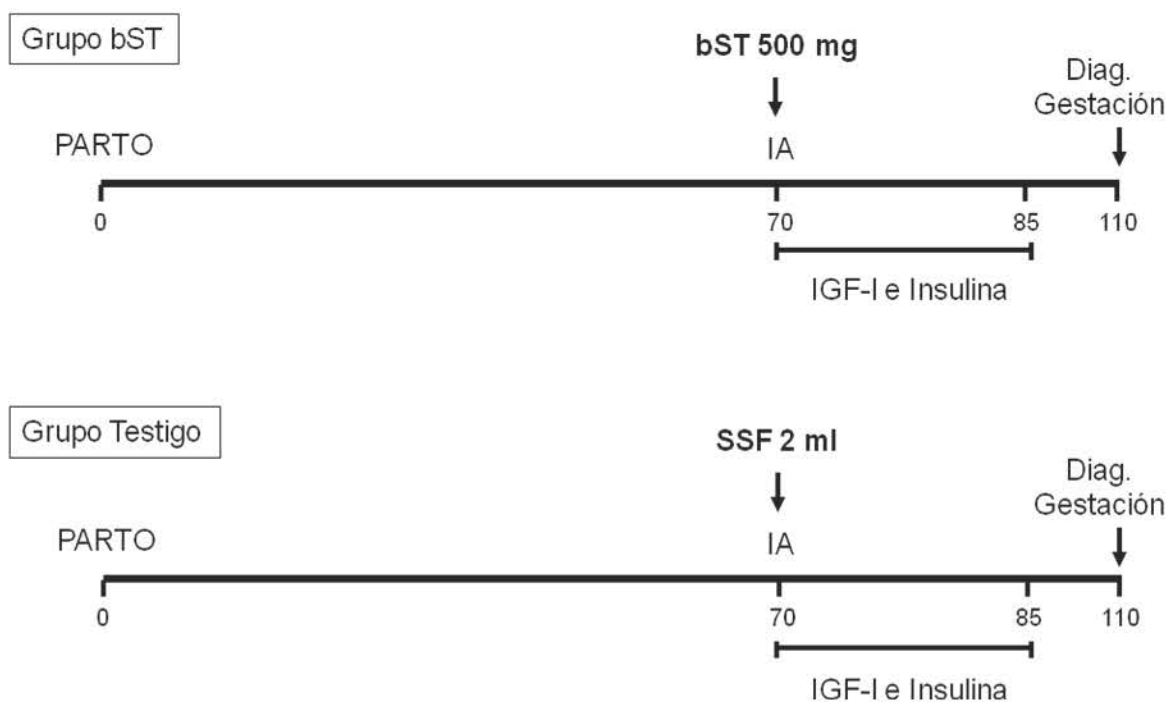


Figura 1. Esquema del diseño experimental.

Las muestras se procesaron en el Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Se determinaron las concentraciones séricas de IGF-I mediante ensayo inmunoradiométrico (IRMA) con un coeficiente de variación intraensayo de 1.84% y con sensibilidad de 2.06 ng/ml, y las concentraciones de insulina mediante un radioinmunoensayo (RIA) con un coeficiente de variación intraensayo de 2.42% y una sensibilidad de 0.064 ng/ml.

Análisis estadístico

Se realizó una prueba de Regresión Logística para variables binarias para determinar el efecto del tratamiento, método de sincronización, número de partos y número de días posparto en el porcentaje de concepción. Las concentraciones séricas de IGF-I e Insulina se compararon mediante Análisis de Varianza para mediciones repetidas.

4. RESULTADOS

El porcentaje de concepción fue similar ($P>0.05$) entre grupos (Cuadro 2) y no se encontró efecto ($P>0.05$) del número de partos, método de sincronización ni del número de días posparto en el porcentaje de concepción, por lo que se considera que la respuesta al tratamiento no fue afectado por las variables mencionadas.

Cuadro 2. Porcentaje de concepción (PC) en vacas Holstein de primer servicio tratadas con bST al momento de la inseminación.

Grupo	n	Vacas gestantes	PC*
Grupo bST	100	29	29
Grupo Testigo	100	31	31
Total	200	60	30

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

En la figura 2 se muestran los niveles séricos promedio de IGF-I, las cuales fueron significativamente más altas ($P<0.05$) en vacas del grupo bST que en vacas del grupo Testigo a partir de la administración de la bST (día 0).

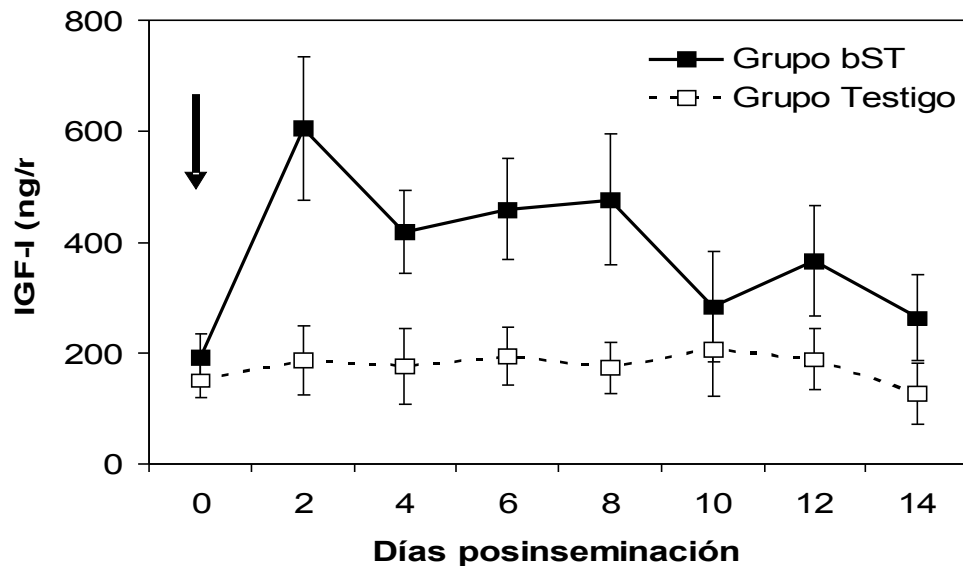


Figura 2. Niveles séricos de IGF-I en vacas tratadas con 500 mg de bST al momento de la inseminación (día 0, ↓) y grupo testigo.

En la figura 3 se muestran los niveles séricos promedio de insulina, las cuales fueron significativamente más altas ($P < 0.05$) en vacas del grupo bST que en vacas del grupo Testigo a partir de la administración de la bST (día 0).

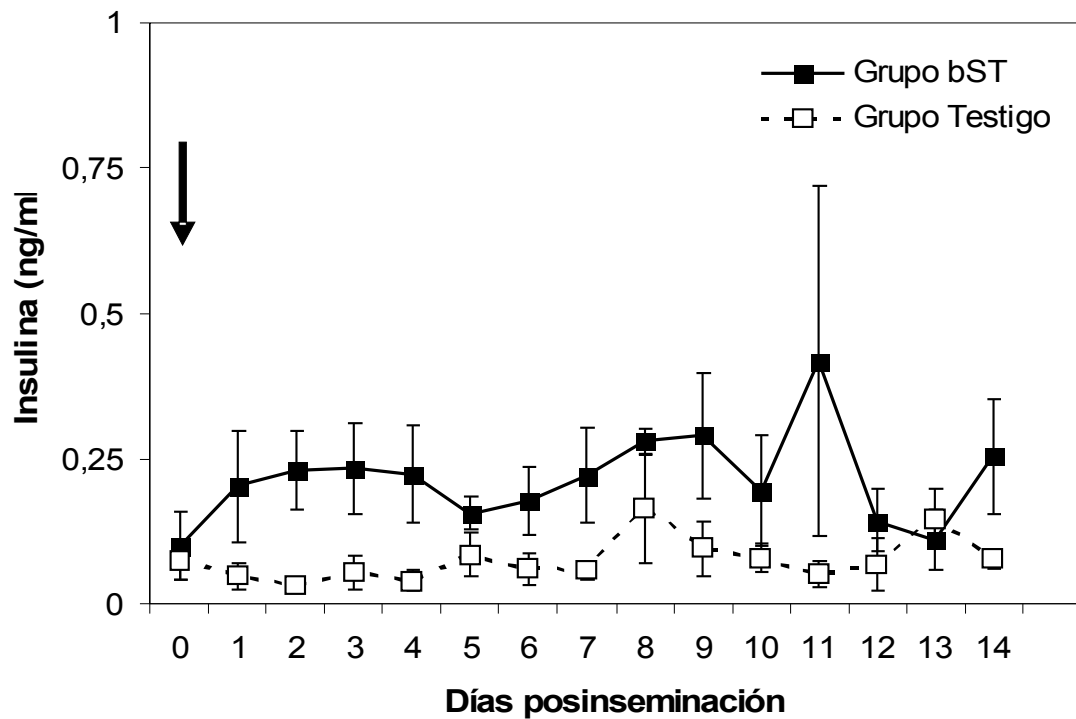


Figura 3. Niveles séricos de insulina en vacas tratadas con 500 mg de bST al momento de la inseminación (día 0, ↓) y grupo testigo.

5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este estudio se encontró que una sola inyección de bST al momento de la inseminación no mejoró el porcentaje de concepción en vacas de primer servicio. Estos resultados son similares a un estudio previo realizado bajo las mismas condiciones; sin embargo, son diferentes a los obtenidos en vacas repetidoras, en donde una sola inyección de bST al momento de la inseminación mejoró la fertilidad (Mendoza, 2000). Asimismo, contrastan con los resultados de Moreira *et al.* (2000, 2001) y Santos *et al.* (2004) en los cuales la inyección de bST al momento de la inseminación y su subsiguiente administración cada 14 días en vacas de primer servicio, incrementó el porcentaje de concepción. La causa de la variación en los resultados puede obedecer a diversos factores, entre los que se encuentran aquellos inherentes a los animales como su estado metabólico y nutricional y a factores propios de la metodología de los diversos estudios, como son el número de días en leche al momento de la inseminación, el momento de aplicación de la bST con relación a la inseminación y, en su caso, el protocolo de administración de la bST para incrementar la producción láctea; además, esa variación puede estar relacionada con el mecanismo de acción del tratamiento y con las diferentes causas de la falla en la concepción que existen entre las vacas de primer servicio y repetidoras.

El mecanismo por el cual la bST mejora la fertilidad puede involucrar los efectos directos de la hormona del crecimiento e indirectos, mediados por el IGF-I, en los procesos reproductivos (Kirby *et al.*, 1997b; Lucy *et al.*, 1999; Moreira *et al.*, 2002a). En el presente estudio, las concentraciones séricas de IGF-I se incrementaron después de la inyección de bST y fueron más altas ($P < 0.05$) durante el período de muestreo (14 días) en comparación con el grupo testigo, lo cual coincide con diversos estudios (Gallo y Block 1990a, 1990b; Bauman, 1999; Bilby *et al.*, 1999). Además se conoce que la repetición de la inyección cada 14 días mantiene los niveles de IGF-I permanentemente altos (Bauman, 1999; Jousan *et al.*, 2007). Así, hay dos ventanas fisiológicas en las cuales la bST y el IGF-I pueden ejercer su efecto y corresponden a las etapas en las que ocurren la

mayor parte de las pérdidas embrionarias (Roberts *et al.*, 1990; Zavy, 1994). La primera ventana corresponde a la fertilización y al desarrollo embrionario durante los primeros siete días, y la segunda, se ubica durante el reconocimiento materno de la gestación (Ayalon, 1978; Thatcher *et al.*, 1994). Algunos efectos de la bST e IGF-I durante estas etapas pueden favorecer la fertilidad. Así, en estudios *in vivo*, la administración de bST al momento del servicio aumenta el porcentaje de ovocitos fertilizados y la proporción de embriones transferibles (Morales, 2000; Moreira *et al.*, 2002a). En condiciones *in vitro*, la adición de hormona de crecimiento o IGF-I al medio, incrementa la proporción de embriones que llegan a la etapa de blastocisto (Moreira *et al.*, 2002b). También se ha observado que los embriones producidos *in vitro* con la adición de IGF-I producen mayores porcentajes de concepción después de su transferencia (Block y Hansen, 2007).

La segunda ventana fisiológica corresponde a los días en que ocurre el reconocimiento materno de la gestación (días 16 a 19 del ciclo estral). Se ha observado que la administración de bST puede modificar el ambiente uterino, lo cual favorecería las condiciones de desarrollo embrionario. Existen receptores para GH e IGF-I en el endometrio (Lucy *et al.*, 1998; Wathes *et al.*, 1998a; Pershing *et al.*, 2002) y se ha localizado RNAm para receptores a IGF-I en las glándulas endometriales (Stevenson *et al.*, 1994; Wathes *et al.*, 1998a; Pershing *et al.*, 2002) y su expresión es mayor durante la fase lútea media (Wathes *et al.*, 1998a). Por otra parte, se ha observado que la bST disminuye la sensibilidad del mecanismo de secreción de la $PGF_{2\alpha}$, a través de una disminución de la actividad de la enzima ciclooxigenasa en las células del endometrio (Badinga *et al.*, 2002) e incrementa la síntesis de IFN- τ , lo cual puede favorecer el rescate del cuerpo lúteo (Kerbler *et al.*, 1997; Mann *et al.*, 1999; Spencer *et al.*, 2004a y 2004b). En el presente estudio sólo se aplicó una inyección de bST al momento de la inseminación, la cual pudo únicamente influir en la primera ventana fisiológica, es decir, durante el desarrollo embrionario temprano, lo que no fue suficiente para favorecer el porcentaje de concepción. Esto puede explicar la diferencia con los resultados obtenidos por Moreira *et al.* (2000, 2001) y Santos *et al.* (2004), en los

cuales las vacas que recibieron inyecciones de bST cada 14 días a partir del servicio mejoraron la fertilidad; así, en estos trabajos las inyecciones de bST pudieron influir tanto en las primeras etapas del desarrollo embrionario como durante el reconocimiento materno de la gestación.

Asimismo, las concentraciones séricas de insulina se incrementaron después de la administración de bST y fueron mayores ($P < 0.05$) durante el período de muestreo (14 días) comparadas con el grupo testigo. La insulina tiene efectos en el desarrollo embrionario temprano (Boland *et al.*, 2001). En estudios *in vitro* la adición de insulina al medio de cultivo mejora la proporción de embriones que llegan a la etapa de mórula (Matsui *et al.*, 1997), además ejerce una acción mitogénica (Augustin *et al.*, 2003) y disminuye la apoptosis en embriones en la etapa de blastocisto (Byrne *et al.*, 2002; Augustin *et al.*, 2003). Por otra parte, la administración de glicerol durante los primeros 6 días posteriores a la inseminación aumentó el porcentaje de concepción en vacas lo cual se asocia con el incremento de las concentraciones de insulina (Ortega, 2006). No obstante, en el presente estudio el incremento en las concentraciones de insulina no aumentó la tasa de concepción.

Los resultados del presente estudio también contrastan con los obtenidos en vacas repetidoras, en las cuales una sola inyección de bST al momento del servicio incrementa el porcentaje de concepción (Mendoza, 2000). Las causas del fracaso en las vacas de primer servicio y su efecto favorable en vacas repetidoras se desconocen. Sin embargo, se puede especular que podrían estar relacionadas con diferencias en la etiología de la falla en la concepción entre estos grupos de vacas. La diferencia en los días posparto entre ambos grupos puede explicar, en parte, los resultados, ya que mientras las vacas de primer servicio tuvieron en promedio 70 días posparto al momento del tratamiento, las vacas repetidoras tenían alrededor de 250 días. De esta forma, las vacas de primer servicio estaban más expuestas a factores que pueden ocasionar falla en la concepción, tales como el balance energético negativo (Villa Godoy *et al.*, 1988; Lucy *et al.*, 1992) o cualquier problema relacionado con el parto (Lewis, 1997); en cambio, las

vacas repetidoras estaban alejadas de estas condiciones. Las observaciones de Starbuck *et al.* (2006) coinciden con esta explicación, ya que ellos observaron que una sola inyección de bST al momento de la inseminación en vacas de más de 100 días posparto incrementó el porcentaje de concepción, mientras que el mismo tratamiento no mejoró la fertilidad en vacas de menos de 100 días posparto.

Se conoce que los folículos que crecen durante el periodo de balance negativo de energía pueden afectarse y ovular ovocitos con menores posibilidades de fertilización y menor potencial para desarrollar un embrión viable (Boland *et al.*, 2001; Silke *et al.*, 2002). Asimismo, en condiciones *in vitro*, la adición de ácidos grasos no esterificados (ácido palmítico y ácido esteárico) al medio, retrasa la maduración del ovocito, afecta la fertilización y retrasa el desarrollo embrionario (Leroy *et al.*, 2005). Estos hallazgos contribuyen a explicar la baja fertilidad en el primer servicio posparto y el mejoramiento de la fertilidad conforme transcurren los ciclos estrales (Thatcher y Wilcox, 1973).

El tratamiento con bST puede mejorar las condiciones para el desarrollo del embrión y puede evitar el efecto de algunos factores tóxicos para los embriones presentes en el ambiente uterino, por lo cual esta hormona puede estar actuando como un factor de sobrevivencia embrionaria (Jousan y Hansen, 2004). Tomando estas observaciones en conjunto, se puede especular que una sola inyección de bST en vacas de primer servicio influye marginalmente en el desarrollo embrionario, ya que los embriones derivan de ovocitos con menor potencial para desarrollar un embrión viable, ya que fueron expuestos a factores negativos durante el periodo posparto. Mientras que los embriones de las vacas repetidoras al provenir de ovocitos libres de daños asociados con el posparto temprano, pueden responder positivamente al tratamiento con bST. Esta especulación es apoyada por los resultados obtenidos por Morales (2000), quien encontró que la administración de bST al momento del servicio aumentó la proporción de embriones transferibles en vacas repetidoras; sin embargo, el mismo tratamiento no tuvo efecto en vacas de primer servicio. Asimismo, en condiciones de estrés calórico el tratamiento con bST (Jousan *et al.*, 2007), similar al utilizado en los

trabajos de Moreira *et al.* (2000, 2001) y Santos *et al.* (2004), fue incapaz de mejorar la fertilidad, lo cual se puede deber a la incapacidad de la bST y el IGF-I para aumentar la sobrevivencia embrionaria cuando los embriones derivan de ovocitos afectados por el estrés calórico durante su proceso de maduración.

En estudios previos (Moreira *et al.* 2000a; Morales-Roura *et al.* 2001), se ha sugerido que otra forma en que la bST puede favorecer la fertilidad podría ser a través del mejoramiento de la función del cuerpo lúteo. En condiciones *in vitro*, el IGF-I incrementa la producción de progesterona en el tejido lúteo (Sauerwein *et al.*, 1992). Además, en diversos trabajos se ha encontrado que las vacas tratadas con bST tienen concentraciones de progesterona más elevadas (Schemm *et al.*, 1990; Gallo y Block, 1991; Lucy *et al.*, 1994). Sin embargo, estudios previos en vacas (Mendoza, 2000) y ovejas (Brozos *et al.*, 1999; Carrillo *et al.*, 2006; Montero *et al.*, 2006), no se ha encontrado efecto de la bST sobre las concentraciones de progesterona.

Los resultados del presente estudio permiten concluir que a diferencia del aumento en la fertilidad observado en vacas repetidoras, una sola inyección de 500 mg de bST en vacas de primer servicio al momento de la inseminación no incrementa la fertilidad.

6. REFERENCIAS

- Adashi EY, Resnick CE, Brodie AMH, Svoboda ME, VanWyk JJ. Somatomedin-C-mediated potentiation of follicle-stimulating hormone-induced aromatase activity of cultured rat granulosa cells. *Endocrinology* 1985;117:2313-2330.
- Aleixo MA, Kozicki LE, Weiss RR, Segui MS, Percy Jr R. A somatotropina recombinante bovina (bST) e a dinâmica folicular em bovinos leiteiros (The bovine recombinant somatotropin (bST) and the follicular dynamic in dairy cows). *Archives of Veterinary Science* 2005;10:19-27.
- Augustin R, Pocar P, Wrenzycki C, Niemann H, Fischer B. Mitogenic and anti-apoptotic activity of insulin on bovine embryos produced *in vitro*. *Reproduction* 2003;126:91-99.
- Ayalon N. A review of embryonic mortality in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility* 1978;54:483-493.
- Badinga L, Guzeloglu A, Thatcher WW. Bovine somatotropin attenuates phorbol ester-induced prostaglandin F_{2α} production in bovine endometrial cells. *Journal of Dairy Science* 2002;85:537-542.
- Barros CM, Pegorer MF, Morales Vasconcelos JL, Eberhardt BG, Monteiro FM. Importance of sperm genotype (*indicus versus taurus*) for fertility and embryonic development at elevated temperatures. *Theriogenology* 2006;65:210–218.
- Bartolome J, Hernandez J, Landaeta A, Kelleman A, Sheerin P, Risco CA, Archbald LE. The effect of interval from day of administration of bovine somatotropin (bST) to synchronization of ovulation and timed-insemination on conception rate of dairy cows with and without ovarian cysts. *Theriogenology* 2002;57:1293-1301.
- Bartolome J, Hernandez J, Sheerin P, Luznar s, Kelbert D, Thatcher WW, Archbald LF. Effect of pretreatment with bovine somatotropin (bST) and/or gonadotropin-release hormone (GnRH) on conception rate of dairy cows with ovarian cysts subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. *Theriogenology* 2003;59:1991-1997.

- Bartolome JA, Kamimura S, Silvestre F, Arteché ACM, Trigg T, Thatcher WW. The use of a deslorelin implant (GnRH agonist) during the late embryonic period to reduce pregnancy loss. *Theriogenology* 2006;65:1443-1453.
- Bauman DE. Bovine somatotropin and lactation: From basic science to commercial application. *Domestic Animal Endocrinology* 1999;17:101-116.
- Bilby CR, Bader JF, Salfen BE, Youngquist RS, Murphy CN, Garverick HA, Crooker BA, Lucy MC. Plasma GH, IGF-I, and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH. *Theriogenology* 1999;51:1285-1296.
- Block J, Hansen PJ. Interaction between season and culture with insulin-like growth factor-1 on survival of *in vitro* produced embryos following transfer to lactating dairy cows. *Theriogenology* 2007;67:1518-1529.
- Boland MP, Lonergan P, O'Callaghan D. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology* 2001;55:1323-1340.
- Bondurant RH, Revah I, Franti C, Harman RJ, Hird D, Klinborg D. Effect of gonadotropin releasing hormone on fertility in repeat breeder California dairy cows. *Theriogenology* 1991;35:365-374.
- Breuel KF, Lewis PE, Schrick FN, Lishman AW, Inskeep EK, Butcher RL. Factors affecting fertility in the postpartum cow: Role of the oocyte and follicle in the conception rate. *Biology of Reproduction* 1993;48:655-661.
- Bridges PJ, Brusie MA, Fortune JE. Elevated temperature (heat stress) *in vitro* reduces androstenedione and estradiol and increases progesterone secretion by follicular cells from bovine dominant follicles. *Domestic Animal Endocrinology* 2005;29:508-522.
- Brozos CN, Saratsis P, Boscós C, Kyriakis SC, Alexopoulos C. The effect of bovine somatotropin (bST) administration on reproduction, progesterone concentration during lactation and LH secretion during estrus, in dairy ewes. *Animal reproduction Science* 1999;56:177-187.
- Butler WR. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology

in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 1998;81:2533-2539.

- Butler WR. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* 2000;60-61:449-457.
- Butler WR. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science* 2003;83:211–218.
- Butler ST, Pelton SH, Butler WR. Energy balance, metabolic status, and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol. *Journal of Dairy Science* 2006;89:2938-2951.
- Byrne AT, Southgate J, Brison DR, Leese HJ. Regulation of apoptosis in the bovine blastocyst by insulin and the insulin-like growth factor (IGF) superfamily. *Molecular Reproduction and Development* 2002;62:489-495.
- Carrillo F, Hernández-Cerón J, Orozco V, Hernández JA, Gutiérrez CG. A single dose of bovine somatotropin 5 days before the end of progestin-based estrous synchronization increases prolificity in sheep. *Animal Reproduction Science* 2006;in press.
- Carter-Su C, Scwuartz J, Smit LS. Molecular mechanism of growth hormone action. *Annals of Review Physiology* 1996;58:187-207
- Chagas e Silva J, Lopes da Costa L, Robalo Silva J. Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle. *Theriogenology* 2002;58:51-59.
- Chandrashekar V, Zaczek D, Bartke A. The consequences of altered somatotropic system on reproduction. *Biology of Reproduction* 2004;71:17-27.
- Chase CC, Kirby JC, Hammond CA, Olson AT, Lucy MC. Patterns of ovarian growth and development in cattle with a growth hormone receptor deficiency. *Journal of Animal Science* 1998;76:212-219.
- Chebel RC, Santos JEP, Reynolds JP, Cerri RLA, Juchem SO, Overton M. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2004;84:239–255.

- Cole WJ, Eppard PJ, Boysen BG, Madsen KS, Sorbet RH, Miller MA, Hintz RL, White TC, Ribelin WE, Hammond BG, Collier RJ, Lanza GM. Response of dairy cows to high doses of a sustained-release bovine somatotropin administered during two lactations. 2. Health and reproduction. *Journal of Dairy Science* 1992;75:111-123.
- Cole JW, Lucy MC. Management of reproduction in dairy herds utilizing bovine somatotropin. En Younquist WR. *Current Therapy in Large Animal. Theriogenology*. Saunders Company, 1997:473-478.
- Cushman RA, DeSouza JC, Hedgpeth VS, Britt, JH. Effect of long-term treatment with recombinant bovine somatotropin and estradiol on hormone concentrations and ovulatory response of superovulated cattle. *Theriogenology* 2001;55:1533-1547.
- Dailey RA, Inskeep EK, Lewis PE. Pregnancy failures in cattle: A perspective on embryo loss. In: Stastny P, editor. *Proceedings of the XVIIIth International Conference on Reproduction of Farm Animals*. Nitra, Slovak Republic:University of Nitra; 2002:1-8.
- Dalton JC, Marcinkowski DP. Effect of sometribove administration on LH concentrations in dairy cattle. *Theriogenology* 1994;41:437-445.
- Davis JS, May JV, Keel BA. Mechanisms of hormone and growth factor action in the bovine corpus luteum. *Theriogenology* 1996;45:1351-1380.
- De La Sota RL, Lucy MC, Staples CR, Thatcher WW. Effects of recombinant bovine somatotropin (Sometrivobe) on ovarian function in lactating and nonlactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1993;76:1002-1013.
- De Rensis F, Marconi P, Capelli T, Gatti F, Facciolongo F, Franzini F, Scaramuzzi RJ. Fertility in postpartum dairy cows in winter or summer following estrus synchronization and time AI after the induction of an LH surge with GnRH or hCG. *Theriogenology* 2002;58:1675-1687.
- De Rensis F, Scaramuzzi RJ. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow: A review. *Theriogenology* 2003;60:1139–1151.
- Deaver DR, Bryan KA. Effects of exogenous somatotropin (ST) on gonadal

function in ruminants and swine. Domestic Animal Endocrinology 1999;17:287-297.

- Díaz BRF. Efecto del tratamiento de somatotropina bovina al momento de la inseminación en la fertilidad de vacas Holstein de primer servicio sincronizadas con prostaglandina F_{2α} (Tesis de Maestría). México (DF) México:Universidad Nacional Autónoma de México, 2004.
- Diskin KG, Sreenan JH. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. Journal of Reproduction and Fertility 1980;39:463-468.
- Eckery DC, Moeller CL, Nett TM, Sawyer HR. Localization and quantification of binding sites for follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, growth hormone, and insulin-like growth factor I in sheep ovarian follicles. Biology of Reproduction 1997;57:507-513.
- Esteban E, Kass PH, Weaver LD, Rowe JD, Holmberg CA, Franti CE, Trout HF. Interval from calving to conception in high producing dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin. Journal of Dairy Science 1994;77:2459-2561.
- Ferguson JD. Diet, production and reproduction in dairy cows. Animal Feed Science Technology 1996;59:173-184.
- Fourichon C, Seegers H, Malher X. Effect disease on reproduction in the dairy cow: A meta-analysis. Theriogenology 2000;53:1729-1759.
- Franco M, Thompson PM, Brad AM, Hansen PJ. Effectiveness of administration of gonadotropin-releasing hormone at days 11, 14 or 15 after anticipated ovulation for increasing fertility of lactating dairy cows and non-lactating heifers. Theriogenology 2006; *en prensa*.
- Gallo GF, Block E. Effects of recombinant bovine somatotropin on nutritional status of dairy cows during pregnancy and of their calves. Journal of Dairy Sciences 1990a;73:3266-3275.
- Gallo GF, Block E. Effects of recombinant bovine somatotropin on nutritional status and liver function of lactating dairy cows. Journal of Dairy Sciences

1990b;73:3276-3286.

- Gallo GF, Block E. Effects of recombinant bovine somatotropin on hypophyseal and ovarian functions of lactating dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science* 1991;71:343-353.
- García E. Modificación al sistema de clasificación climática de Köepen. México, DF:Insituto de Geografía, Universidad nacional Autónoma de México 1987:
- Gong JG, Bramley T, Webb R. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers: Follicular populations and peripheral hormones. *Biology of Reproduction* 1991;45:941-949.
- Hasler JF, Bilby CR, Collier RJ, Denham SC, Lucy MC. Effect of recombinant bovine somatotropin on superovulatory response and recipient pregnancy rates in a commercial embryo transfer program. *Theriogenology* 2003;59:1919-1928.
- Hernández-Cerón J, Zarco QL. Función del cuerpo lúteo y muerte embrionaria en rumiantes. *Ciencia Veterinaria* 1998;8:1-28.
- Hernández-Cerón J, Morales-Roura JS. Falla en la concepción en el ganado lechero: Evaluación de terapias hormonales. *Veterinaria México* 2001;32:279-287.
- Inskoop EK, Dailey RA. Embryonic death in cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food and Animal Practice* 2005;21:437-461.
- Izadyar F, Van Tol HTA, Colenbrander B, Bevers MM. Stimulatory effect of Growth Hormone on *in vitro* maturation of bovine oocytes is exerted through cumulus cells and not mediated by IGF-I. *Molecular Reproduction and Development* 1997;47:175-180.
- Izadyar F, Van Tol HTA, Hage WG, Bevers MM. Preimplantation bovine embryos express mRNA of growth hormone receptor and respond to growth hormone addition during *in vitro* development. *Molecular Reproduction and Development* 2000;57:247-255.
- Jiménez-Krassel F, Binelli M, Tucker HA, Ireland JJ. Effect of long-term

infusion with recombinant growth hormone-releasing factor and recombinant bovine somatotropin on development and function of dominant follicles and corpora lutea in Holstein cows. *Journal of Dairy Sciences* 1999;82:1917-1926.

- Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: Biological actions. *Endocrine Reviews* 1995;16:3-34.
- Jousan FD, Hansen PJ. Insulin-like growth factor I as a survival factor for the bovine preimplantation embryo exposed to heat shock. *Biology of Reproduction* 2004;71:1665-1670.
- Jousan FD, de Castro e Paula LA, Block J, Hansen PJ. Fertility of lactating dairy cows administered recombinant bovine somatotropin during heat stress. *Journal of Dairy Science* 2007;90:341-351.
- Joyce IM, Khalid M, Haresign W. The effect of recombinant GH treatment on ovarian follicle growth and atresia in sheep. *Theriogenology* 2000;54:327-338
- Judge LJ, Bartlett PC, Lloyd JW, Erskine RJ. Recombinant bovine somatotropin: Association with reproductive performance in dairy cows. *Theriogenology* 1999;52:481-496.
- Kaye PL. Preimplantation growth factor physiology. *Reviews of Reproduction* 1997;2:121-127.
- Kerbler TL, Burh MM, Jordan LT, Leslie KE, Walton JS. Relationships between maternal plasma progesterone concentration and interferon tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology* 1997;47:703-714.
- Kirby CJ, Thatcher WW, Collier RJ, Simmen FA, Lucy MC. Effects of growth hormone and pregnancy on expression of growth hormone receptor, insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-2 and -3 genes in bovine uterus, ovary and oviduct. *Biology of Reproduction* 1996;55:996-1002.
- Kirby CJ, Smith MF, Keisler DH, Lucy MC. Follicular function in lactating dairy cows treated with sustained-release bovine somatotropin. *Journal of Dairy Science* 1997a;80:273-285.
- Kirby CJ, Wilson SJ, Lucy MC. Response to dairy cows treated with bovine

somatotropin to a luteolytic dose of prostaglandin F_{2α}. Journal of Dairy Science 1997b;80:286-294.

- Ko Y, Lee CY, Ott TL, Davis MA, Simmen RCM, Bazer FW, Simmen FA. Insulin-like growth factors in sheep uterine fluids: Concentrations and relationships to ovine trophoblast protein-1 production during early pregnancy. Biology of Reproduction 1991;45:135-142.
- Lefebvre DM, Block E. Effect of recombinant bovine somatotropin on estradiol-induced estrous behavior in ovariectomized heifers. Journal of Dairy Sciences 1992;75:1461-1464
- Leroy JLMR, Vanholder T, Mateusen B, Christophe A, Opsomer G, de Kruif A, Genicot G, Van Soom A. Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on Developmental capacity of bovine oocytes *in vitro*. Reproduction 2005;130:485-495.
- Lewis GS. Uterine health and disorders. Journal of Dairy Science 1997;80:984-994.
- López-Gatius F. Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain. Theriogenology 2003;60:89-99.
- Lucy MC. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. Journal of Dairy Sciences 2000;83:1635-1647.
- Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota RL, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. Journal of Animal Science 1992;70:3615-3626.
- Lucy MC, Collier RJ, Kitchell ML, Dibner JJ, Hauser SD, Krivi GG. Immunohistochemical and nucleic acid analysis of somatotropin receptor populations in the bovine ovary. Biology of Reproduction 1993;48:1219-1227.
- Lucy MC, Curran LT, Collier JR, Cole JW. Extended function of the corpus luteum and earlier development of the second follicular wave in heifers treated with bovine somatotropin. Theriogenology 1994;41:561-572.
- Lucy MC, Thatcher WW, Collier RJ, Simmen FA, Ko Y, Savio JD, Badinga L. Effects of somatotropin on the conceptus, uterus, and ovary during maternal

recognition of pregnancy in cattle. *Domestic Animal Endocrinology* 1995;12:73-82.

- Lucy MC, Boyd CK, Koenigsfeld AT, Okamura CS. Expression of somatotropin receptor messenger ribonucleic acid in bovine tissues. *Journal of Dairy Sciences* 1998;81:1889-1895.
- Lucy MC, Bilby RC, Kirby JC, Yuan W, Boyd KC. Role of growth hormone in development and maintenance of follicles and corpora lutea. *Journal of Reproduction and Fertility* 1999;54(suppl):49-59.
- MacMillan KL, Taufan VK, Day AM, Peterson AJ. Effects of supplemental progesterone on pregnancy rates in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility* 1991;43:304-314.
- MacMillan KL, Kean JL, Westwood TC. The effects of lactation on the fertility of dairy cows. *Journal of Australian Veterinary* 1996;73:141-147.
- Makarevich AV, Sirotkin AV. The involvement of the GH/IGF-I axis in the regulation of secretory activity by bovine oviduct epithelial cells. *Animal Reproduction Science* 1997;48:197-207.
- Mann GE, Lamming GE. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reproduction of Domestic Animals* 1999;34:269-174.
- Mann GE, Lamming GE. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 2001;121:175-180.
- Mann GE, Lamming GE, Robinson RS, Wathes DC. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility* 1999;54(suppl):317-328.
- Martal J, Chêne N, Camous S, Huynh L, Lantier F, Hermier P, L'Haridon R, Charpigny G, Charlier M, Chaouat G. Recent developments and potentialities for reducing embryo mortality in ruminants: The role of IFN- τ and other cytokines in early pregnancy. *Reproduction Fertility and Development* 1997;9:355-380.
- Matsui M, Takahashi Y, Hishinuma M, Kanagawa H. Insulin and insulin-like

growth factor-I (IGF-I) stimulate the development of embryos fertilized in vitro. *Journal of Veterinary Medicine Science* 1995;57:1109-1111.

- Matsui M, Takahashi Y, Hishiunuma M, Kanagawa H. Stimulation of the development of bovine embryos by insulin and insulin-like growth factor (IGF-I) is mediated through the IGF-I receptor. *Theriogenology* 1997;48:605-616.
- McDougall S, Macaulay R, Compton C. Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* 2007;99:9-23.
- Mendoza MG. Efecto de una dosis de 500 mg de somatotropina bovina recombinante (rbST) en la fertilidad de vacas Holstein al primer servicio y repetidoras (Tesis de Maestría). México (DF) México:Universidad Nacional Autónoma de México, 2000.
- Miyoshi S, Pate JL, Palmquist DL. Effects of propylene glycol drenching on energy balance, plasma glucose, plasma insulin, ovarian function and conception in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2001;86:29-43.
- Montero PA, Hernández-Cerón J, Valencia J, Gutiérrez CG, Rojas S. La somatotropina aplicada 5 días antes del retiro del tratamiento con progestágenos incrementa la producción de blastocistos en la oveja. *Memorias de la XLII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*; 2006 noviembre 6-11; Veracruz (Veracruz) México. México (DF):132
- Moore K, Thatcher WW. Major advances associated with reproduction in cattle. *Journal of Dairy Science* 2006;89:1254-1266.
- Morales RJS. Efecto de un tratamiento corto de rbST (“Lactotropina”) sobre la fertilidad de vacas Holstein repetidoras (Tesis de Maestría). México (DF) México:Universidad Nacional Autónoma de México, 1993.
- Morales RJS. Efecto de un tratamiento corto de somatotropina bovina sobre niveles hormonales, actividad ovárica y desarrollo embrionario en hembras Holstein (Tesis de Doctorado). México (DF) México:Universidad Nacional Autónoma de México, 2000.
- Morales-Roura JS, Hernández-Cerón J, Rodríguez TG, Peña FR.

Comparación del porcentaje de concepción y la función lútea en vacas de primer servicio, repetidoras y vaquillas holstein. Veterinaria México 2000;31:179-184.

- Morales-Roura JS, Zarco L, Hernández-Cerón J, Rodríguez G. Effect of short-term treatment with bovine somatotropin at estrus on conception rate and luteal function of repeat-breeding dairy cows. Theriogenology 2001;55:1831-1841.
- Morbeck DE, Britt JH, McDaniel BT. Relationships among milk yield, metabolism and reproductive performance of primiparous Holstein cows treated with somatotropin. Journal of Dairy Sciences 1991;74:2153-2164.
- Moreira F, Risco CA, Pires MFA, Ambrose JD, Drost M, Thatcher WW. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. Journal of Dairy Science 2000;83:1237-1247.
- Moreira F, Orlandi C, Risco CA, Mattos R, Lopes F, Thatcher WW. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 2001;84:1646-1659.
- Moreira F, Bandinga L, Burnley C, Thatcher WW. Bovine somatotropin increases embryonic development in superovulated cows and improves post-transfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. Theriogenology 2002a;57:1371-1387.
- Moreira F, Paula-Lopes FF, Hansen PJ, Bandinga L, Thatcher WW. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor on development of *in vitro* derived bovine embryos. Theriogenology 2002b;57:895-907.
- Ortega LA. Efecto de la administración oral de glicerol en el desarrollo embrionario y fertilidad de vacas Holstein (Tesis de Maestría). México (DF) México:Universidad Nacional Autónoma de México, 2006
- Palma GA, Muller M, Brem G. Effect of insulin-like growth factor I (IGF-I) at high concentrations on blastocyst development of bovine embryos produced *in vitro*. Journal of Reproduction and Fertility 1997;110:347-353.

- Pershing RA, Lucy MC, Thatcher WW, Badinga L. Effects of BST on oviductal and uterine genes encoding components of the IGF system in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Sciences* 2002;85:3260–3267.
- Peters MW, Pursley JR. Fertility of lactating dairy cows treated with ovsynch after presynchronization injections of PGF_{2α} and GnRH. *Journal of Dairy Science* 2002;85:2403–2406.
- Peterson AJ, Donnison MJ, Pearson S, MacMillan WH. Contrasting early development in a herd of recipient cattle with previously high or low pregnancy rates. *Theriogenology* 1999;51:229.
- Reynolds PL, Redmer AD. Growth and development of the corpus luteum. *Journal of Reproduction and Fertility* 1999;54(suppl):181-191.
- Rieger D, Luciano AM, Modina S, Pocar P, Lauria A, Gandolfi F. The effects of epidermal growth factor and insulin-like growth factor I on the metabolic activity, nuclear maturation and subsequent development of cattle oocytes *in vitro*. *Journal of Reproduction and Fertility* 1998;112:123-130.
- Risco CA, Donovan GA, Hernandez J. Clinical mastitis associated with abortion in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1999;82:1684-1689.
- Roberts RM, Schalue-Francis T, Francis H, Keisler D. Maternal recognition of pregnancy and embryonic loss. *Theriogenology* 1990;33:175-183.
- Roche JF, Boland MP, McGeady TA. Reproductive wastage following artificial insemination in heifers. *Veterinary Record* 1981;109:401-403.
- Roche JF. The effect of nutritional management of the dairy cow on the reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science* 2006;96:282-296.
- Rodríguez COA, Rangel MLM, Verdín CL, Campos SH, García OC, Benítez S, Montaldo H, Hernández-Cerón J. Factores que influyen en el porcentaje de concepción de vacas Holstein en condiciones de estabulación. *Memorias del XXIX Congreso Nacional de Buiatría; 2005 agosto 11-13; Puebla (Puebla) México. México (DF):Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2005:243.*

- Santos JEP, Thatcher WW, Pool L, Overton MW. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high producing lactating Holstein dairy cows. *Journal of Animal Science* 2001;79:2881-2894.
- Santos JEP, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA, Galvão NK. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal Reproduction Science* 2004;82-83:513-535.
- Sauerwein H, Miyamoto A, Günther J, Meyer HHD, Schams D. Binding and action of insulin-like growth factors and insulin in bovine luteal tissue during the oestrous cycle. *Journal of Reproduction and Fertility* 1992;96:103-115.
- Schemm SR, Deaver DR, Griel Jr LC, Muller LD. Effects of recombinant bovine somatotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows. *Biology of Reproduction* 1990;42:815-821.
- Sheldon IM. Bovine fertility-practical implications of the maternal recognition of pregnancy. *In Practice* 1997;nov-dec:546-556
- Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 2006a;65:1516-1530.
- Sheldon IM, Wathes DC, Dobson H. The management of bovine reproduction in elite herds. *The Veterinary Journal* 2006b;171:70-78.
- Silke V, Diskin MG, Kenny DA, Boland MP, Dillon P, Mee JF, Sreenan JM. Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2002;71:1-12.
- Simmen MC, Ko Y, Simmen FA. Insulin-like growth factors and blastocyst development. *Theriogenology* 1993;39:163-165.
- Sirisathien S, Hernandez-Fonseca HJ, Brackett BG. Influences of epidermal growth factor and insulin-like growth factor-I on bovine blastocyst development *in vitro*. *Animal Reproduction Science* 2003;77:21-32.
- Spencer TE, Burghardt RC, Johnson GA, Bazer FW. Conceptus signal for establishment and maintenance of pregnancy. *Animal Reproduction Science* 2004a;82-83:537-550.

- Spencer TE, Johnson GA, Burghardt RC, Bazer FW. Progesterone and placental hormone actions on the uterus: Insights from domestic animals. *Biology of Reproduction* 2004b;71:2-10.
- Sreenan JM, Diskin MG, Morris DG. Embryo survival rate in dairy cattle: A major limitation to the achievement of high fertility. *Proceedings of the fertility in the high-producing dairy cow 2001;BSAS Occasional Publication*:93–104.
- Stanisiewski EP, Krabill LF, Lauderdale JW. Milk yield, health, and reproduction of dairy cows given somatotropin (Somavubove) beginning early postpartum. *Journal of Dairy Science* 1992;75:2149-2164.
- Starbuck MJ, Dailey RA, Inskeep EK. Factors affecting retention of early pregnancy in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* 2004;84:27-39.
- Starbuck MJ, Inskeep EK, Dailey RA. Effect of a single growth hormone (rbST) treatment at breeding on conception rates and pregnancy retention in dairy and beef cattle. *Animal Reproduction Science* 2006;93:349-359.
- Stevenson KR, Gilmour RS, Wathes DC. Localization of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and -II messenger ribonucleic acid and type 1 IGF receptors in the ovine uterus during the estrous cycle and early pregnancy. *Endocrinology* 1994;134:1655-1664.
- Stevenson JS, Pursley JR, Garverick HA, Fricke PM, Kesler DJ, Ottobre JS, Wiltbank MC. Treatment of cycling and noncycling lactating dairy cows with progesterone during Ovsynch. *Journal of Dairy Science*. 2006;89:2567–2578.
- Sugiyama S, McGowan M, Kafi M, Phillips N, Young M. Effects of increased ambient temperature on the development of *in vitro* derived bovine zygotes *Theriogenology* 2003;60:1039–1047.
- Swanson LV, Young AJ. Failure of gonadotropin-releasing hormone or human chorionic gonadotropin to enhance the fertility of repeat-breeder cows when administered at the time of insemination. *Theriogenology* 1990;34:955-963.
- Tefera M, Chaffaux S, Thibier M, Humblot P. A short note: Lack of effect of post-AI hCG or GnRH treatment on embryonic mortality in dairy cattle. *Livestock Production Science* 2001;71:277–281.

- Thatcher WW, Wilcox CJ. Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in the dairy cow. *Journal of Dairy Science* 1973;56:608-610.
- Thatcher WW, Staples CR, Danet-Desnoyers G, Oldick B, Schmitt EP. Embryo health and mortality in sheep and cattle. *Journal of Animal Science* 1994;72(suppl 3):16-30.
- Thatcher WW, Moreira F, Santos JEP, Mattos RC, Lopes FL, Pancarcil SM, Risco CA. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology* 2001;55:75-89.
- Thatcher WW, Bilby TR, Bartolome JA, Silvestre F, Staples CR, Santos JEP. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. *Theriogenology* 2006;65:30-44.
- Van Cleff J, Drost M, Thatcher WW. Effect of postinsemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. *Theriogenology* 1991;36:795-807.
- Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chapin LT, Fogwell RL. Association between energy balance and luteal function in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1988;71:1063-1072.
- Wathes DC, Reynolds TS, Robinson RS, Stevenson KR. Role of the insulin-like growth factor system in uterine function and placental development in ruminants. *Journal of Dairy Science* 1998a;81:1778-1789.
- Wathes DC, Robinson SR, Mann GE, Lamming GE. The establishment of early pregnancy in cows. *Reproduction of Domestic Animals* 1998b;33:279-284.
- Watson AJ, Hogan A, Hahnel A, Wiemer HE, Schultz GA. Expression of growth factor ligand the receptor genes in the preimplantation bovine embryo. *Molecular Reproduction and Development* 1992;31:87-95.
- Webb R, Gong JG, Bramley TA. Role of growth hormone and intrafollicular peptides in follicle development in cattle. *Theriogenology* 1994;41:25-30.
- Weems CW, Weems YS, Randel RD. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *The Veterinary Journal* 2006;171:206-228.

- Wilmut I, Sales DI, Ashworth CJ. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. *Journal of Reproduction and Fertility* 1986;76:851-864.
- Xolalpa CV, Pérez Ruano M, García OC. Factores asociados a eventos de falla reproductiva de los bovinos hembras del Complejo Agropecuario e Industrial de Tizayuca (CAITSA), Hidalgo México, durante el período de 2000 a 2001. *Revista de Salud Animal* 2003a;25:129-137.
- Xolalpa CV, Pérez Ruano M, García OC. Incidencia de eventos de falla reproductiva y su impacto sobre el intervalo parto-concepción (días abiertos) de bovinos hembras de la cuenca lechera de Tizayuca, Hidalgo, México, durante los años 2001 y 2002. *Revista de Salud Animal* 2003b;25:45-49.
- Yuan W, Lucy MC. Effects of growth hormone, prolactin, insulin-like growth factors, and gonadotropins on progesterone secretion by porcine luteal cells. *Journal of Animal Science* 1996;74:866-872.
- Zarco QLA. Factores que afectan los resultados de la inseminación artificial en el bovino lechero. *Veterinaria México* 1990;21:235-240.
- Zavy MT. Embryonic mortality in cattle. In: Zavy MT, Geisert RD, editors. *Embryonic mortality in domestic species*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1994:99-140.