



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN  
CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
REPRODUCCIÓN

EFFECTO DE UN TRATAMIENTO CON PROGESTERONA  
EN EL DÍA CINCO POSINSEMINACIÓN SOBRE EL  
PORCENTAJE DE CONCEPCIÓN DE VACAS LECHERAS  
DE PRIMERO Y SEGUNDO SERVICIOS

**T E S I S**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS

**PRESENTA**  
MARTHA RAMÍREZ LÓPEZ

TUTOR PRINCIPAL: JOEL HERNÁNDEZ CERÓN FMVZ-UNAM  
COMITÉ TUTOR: CARLOS G. GUTIÉRREZ AGUILAR FMVZ-UNAM  
JAIME GALLEGOS SÁNCHEZ COLEGIO DE POSTGRADUADOS

MÉXICO, D.F. MARZO 2013



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.

## **DECLARACIÓN**

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

Martha Ramírez López

## DEDICATORIAS

*A mi madre Silvia López Jiménez*

*y*

*a mis hermanos Edgar y Amalia*

*“La vida no es ningún pasillo recto y fácil  
que recorremos libres y sin obstáculos,  
sino un laberinto de pasadizos,  
en el que tenemos que buscar nuestro camino,  
perdidos y confusos, detenidos,  
de vez en cuando, por un callejón sin salida.  
Pero, si tenemos fe, siempre se abre  
una puerta ante nosotros;  
quizá no sea la que imaginamos,  
pero sí será, finalmente,  
la que demuestre ser buena  
para nosotros”*

*A. J. CRONIN*

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

A los miembros de mi Comité Tutorial:

Dr. Joel Hernández Cerón

Dr. Carlos Guillermo Gutiérrez Aguilar

Dr. Jaime Gallegos Sánchez

Al Complejo Agropecuario e Industrial de Tizayuca, Hidalgo.

A los estudiantes de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco quienes fueron los que obtuvieron los datos del experimento.

A compañeros, amigos de generación de maestría y del Departamento de Reproducción Animal de la FMVZ.

Este estudio fue financiado por el Proyecto PAPIIT IN219811-3 de la Universidad Nacional Autónoma de México.

## RESUMEN

El porcentaje de concepción en las vacas lecheras es más bajo en los dos primeros servicios que en el tercero y cuarto servicios. La baja fertilidad se ha asociado con la disminución en las concentraciones séricas de progesterona ( $P_4$ ) provocadas por la elevada tasa de eliminación hepática de las hormonas esteroides. La administración de progesterona entre los días 5 y 9 después de la inseminación mejora el desarrollo embrionario y aumenta la secreción de interferón tau ( $INF-\tau$ ). En este estudio se probó si la inyección de progesterona en el día cinco posinseminación incrementa el porcentaje de concepción en vacas lecheras de primero y segundo servicios. Se utilizaron 384 vacas lecheras de diferente número de partos, de primero y segundo servicios. Las vacas en estro se inseminaron bajo el programa am-pm/pm-am. En el día cinco posinseminación se asignaron al azar a los siguientes grupos:  $P_4$  ( $n=193$ ), las vacas recibieron por vía intramuscular 500 mg de progesterona; Testigo ( $n=191$ ), no recibieron progesterona. Entre los días 40 y 50 posinseminación se realizó el diagnóstico de gestación mediante palpación rectal. Se comparó el porcentaje de concepción entre grupos mediante una prueba de Ji cuadrada. El porcentaje de concepción global entre los grupos tendió a ser mayor ( $P=0.08$ ) en las vacas tratadas con progesterona ( $P_4=43\%$  vs. Testigo= $34\%$ ). Al hacer la comparación del porcentaje de concepción por número de servicios, el tratamiento incrementó ( $P=0.02$ ) la fertilidad sólo en las vacas de primer servicio ( $46\%$  vs.  $32\%$ ;  $P_4$  y Testigo, respectivamente). La comparación del porcentaje de concepción de acuerdo con el número de días en leche, mostró que el tratamiento con progesterona aumentó la fertilidad ( $P=0.05$ ) en vacas con menos de 100 días en leche ( $44\%$ ), pero no en vacas con más de 100 días en leche ( $31\%$ ). Se concluye que la inyección de progesterona en el día cinco después de la inseminación incrementa el porcentaje de concepción en vacas de primer servicio, con menos de 100 días en leche.

Palabras clave: progesterona, porcentaje de concepción, primer servicio, vacas lecheras.

## ABSTRACT

Pregnancy rate in dairy cows is lower in the first two services than in the third and fourth services. Low fertility has been associated with decrease of serum progesterone levels ( $P_4$ ) caused by a high rate of steroid hormone elimination by the liver. Progesterone administration between days five and nine after insemination improves embryo development and increases interferon-tau (INF- $\tau$ ) secretion. In this study it was tested whether progesterone injection on day five after insemination increases pregnancy rate in dairy cows due for first and second services. Three hundred and eighty four dairy cows of first and second services and different number of calvings, were used. Cows in oestrus were inseminated under the am-pm/pm-am program. On day five after insemination cows were randomized to the following groups:  $P_4$  ( $n = 193$ ), cows received 500 mg of progesterone by intramuscular route; the control group ( $n = 191$ ) did not receive progesterone. Between days 40 and 50 after insemination, pregnancy diagnosis was performed by rectal palpation. The pregnancy rate was compared between groups by chi-square test. The global pregnancy rate between groups tended to be higher ( $P = 0.08$ ) in treated cows with progesterone ( $P_4 = 43\%$  vs control = 34%). Comparing pregnancy rate for number of services, the treatment increased ( $P=0.02$ ) fertility only in first service cows (46% vs 32%;  $P_4$  and control, respectively). The comparison of pregnancy rate according to number of days in milk (DIM), showed that progesterone treatment increased fertility ( $P = 0.05$ ) in cows with less than 100 DIM (44%), but not in cows with more than 100 DIM (31%). It is concluded that progesterone injection on day five after insemination increases pregnancy rate in first service cows with less than 100 DIM.

Keys words: progesterone, pregnancy rate, first service, dairy cows.

## CONTENIDO

	Página
DECLARACIÓN	II
DEDICATORIAS	III
AGRADECIMIENTOS	IV
RESUMEN	V
ABSTRACT	VI
ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS	IX
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Formación y función del cuerpo lúteo en el bovino	3
2.2 Progesterona y sus efectos	4
2.3 Regresión del cuerpo lúteo en bovinos	7
2.4 Reconocimiento materno de la gestación	10
2.5 Muerte embrionaria	12
2.6 Alteraciones hormonales que causan muerte embrionaria	12
2.7 Tratamientos que se utilizan para mejorar el porcentaje de concepción	15
2.7.1 Uso de GnRH	15
2.7.2 Aplicación de progesterona	16
2.7.3 Aplicación de la hCG	17
2.7.4 Modificación de la dinámica folicular	18
3. MATERIAL Y MÉTODOS	21
3.1 Localización	21
3.2 Animales y diseño experimental	21
3.3 Tratamientos	21

3.4 Análisis estadístico	22
4. RESULTADOS	23
5. DISCUSIÓN	26
6. CONCLUSIÓN	30
7. REFERENCIAS	31

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Cuadro 1. Porcentaje de concepción global de vacas tratadas con progesterona cinco días después de la inseminación y grupo testigo.	23
Cuadro 2. Porcentaje de concepción por número de servicios de vacas tratadas con progesterona cinco días después de la inseminación y grupo testigo.	24
Cuadro 3. Porcentaje de concepción de acuerdo a los días en leche de vacas tratadas con progesterona cinco días después de la inseminación y grupo testigo.	24
Cuadro 4. Porcentaje de concepción por paridad en vacas tratadas con progesterona cinco días después de la inseminación y grupo testigo.	25
Figura 1. Esquema de los tratamientos.	22

## 1. INTRODUCCIÓN

La fertilidad en la vaca lechera ha disminuido significativamente en los últimos 40 años, esto último ha coincidido con un incremento en la producción de leche (Butler, 2000; Royal *et al.*, 2000). La disminución del porcentaje de concepción se ha observado en todos los servicios; sin embargo, los dos primeros servicios posparto son los menos fértiles, lo cual podría estar asociado con la cercanía a los problemas del puerperio y al balance energético negativo que presentan las vacas durante los primeros 100 días en leche (Tixi *et al.*, 2009).

El bajo porcentaje de concepción se debe a la falla en la fertilización del ovocito y por la alta incidencia de muerte embrionaria temprana. Se ha observado que cerca del 80-90% de los ovocitos es fertilizado; sin embargo, una alta proporción de los embriones muere antes del día 16 después de la inseminación (Diskin y Morris, 2008). Una de las causas de las pérdidas embrionarias está relacionada con la disminución de la capacidad del embrión de producir cantidades suficientes de interferón-tau (INF- $\tau$ ), el cual inhibe la síntesis de receptores para oxitocina en el endometrio provocando el bloqueo a la síntesis de prostaglandina F<sub>2</sub> $\alpha$  (PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ) y la regresión del cuerpo lúteo (Mann y Lamming, 1999; Mann y Lamming, 2001). El retraso del desarrollo embrionario puede ser consecuencia de las bajas concentraciones séricas de progesterona que padecen las vacas lecheras debido a que el cuerpo lúteo produce menos progesterona (Stronge *et al.*, 2005) y porque metabolizan más rápido las hormonas esteroideas (Vasconcelos *et al.*, 2003).

Las bajas concentraciones de progesterona en el día cinco posinseminación (Shelton *et al.*, 1990; Lamming y Darwash, 1995; Larson *et al.*, 1997) o un retraso en el aumento de las concentraciones de progesterona entre los días 4 y 5 posterior al servicio (Larson *et al.*, 1997; Lamming y Darwash, 1998; Starbuck *et al.*, 1999) se han asociado con una reducción en el porcentaje de concepción. Se ha observado que estas condiciones tienen como resultado el desarrollo de embriones de menor tamaño que secretan cantidades inferiores de interferón-tau, por lo cual disminuye su capacidad para inhibir el mecanismo luteolítico (Kerbler *et*

*al.*, 1997; Mann y Lamming, 2001). Por otro lado, el incremento de los niveles séricos de progesterona mediante la inserción de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (CIDR) en los días 5 al 9 incrementa 4 veces el tamaño del trofoblasto y 6 veces las concentraciones uterinas de interferón-tau en vacas no lactantes (Mann *et al.*, 2006).

Se ha logrado aumentar las concentraciones sanguíneas de progesterona mediante la inducción de la formación de un cuerpo lúteo adicional. El tratamiento con gonadotropina coriónica humana (hCG) o con la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) en los días 4 a 7 después de la inseminación provoca la ovulación del folículo dominante y la formación de un cuerpo lúteo adicional (Price y Webb, 1989; Souza *et al.*, 2009), lo que resulta en un incremento de los niveles séricos de progesterona y en mejoramiento del porcentaje de concepción (Santos *et al.*, 2001).

Mann *et al.* (2006), observaron que la suplementación con progesterona en los días 5 al 9 posinseminación favorece el desarrollo del embrión, mientras que el mismo tratamiento, entre los días 12 y 16, no tiene ningún efecto. Larson *et al.* (2007), encontraron que al utilizar un CIDR, previamente usado para sincronizar el estro, entre los días 3.5 al 10 posinseminación se incrementó el porcentaje de concepción de 35% a 48%. Estos resultados permiten proponer que hay un periodo fisiológico en el cual un aumento de los niveles séricos de progesterona podría favorecer la supervivencia embrionaria y, en consecuencia, el porcentaje de concepción.

En este estudio se probó si una inyección de progesterona en el día cinco posinseminación incrementa el porcentaje de concepción en vacas lecheras de primero y segundo servicios.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 Formación y función del cuerpo lúteo en el bovino**

El cuerpo lúteo es una glándula endocrina transitoria indispensable para mantener la gestación en la vaca. El pico preovulatorio de la hormona luteinizante provoca una serie de cambios morfológicos y bioquímicos que dan como resultado la ovulación y una reorganización de las células foliculares (Niswender *et al.*, 1994). Cuando ocurre la ovulación, que en promedio es 30 horas después del inicio del pico preovulatorio de la hormona luteinizante (LH) en bovinos (Karsch *et al.*, 1992), la membrana basal entre la teca interna y las células de la granulosa se rompe y los vasos sanguíneos invaden el espacio folicular antral desarrollándose una extensa red vascular. Durante este proceso hay una significativa hipertrofia e hiperplasia de las células tecales las cuales migran hacia adentro de la cavidad folicular y se dispersan entre las células luteinizadas (Niswender *et al.*, 1994).

La mayor parte del parénquima del cuerpo lúteo esta formado por células esteroideogénicas que constituyen el 80% del total celular, mientras que las células de soporte aportan el 20% restante (Wiltbank y Niswender, 1992). Hay dos tipos de células esteroideogénicas en el cuerpo lúteo de la vaca siendo el tamaño la diferencia más obvia, por lo que se clasifican como células chicas y grandes. Las células lúteas chicas contienen en abundancia retículo endoplásmico liso, mitocondrias y gotas de lípidos dentro del citoplasma, y representan el 20% del volumen total del cuerpo lúteo. Las células lúteas grandes representan el 40% del volumen total del cuerpo lúteo y contienen numerosas mitocondrias, abundante retículo endoplásmico rugoso y gránulos secretorios electrodensos que contienen oxitocina y relaxina, que son liberadas por exocitosis (Niswender *et al.*, 1994).

A nivel bioquímico se observa que después del pico preovulatorio de LH la producción de androstenediona y  $17\beta$ -estradiol disminuye y en contraste comienza a incrementarse la síntesis de progesterona, que es el principal producto de secreción del cuerpo lúteo. Así, en los días 4 a 6 después de la ovulación las

concentraciones de progesterona en sangre son mayores de 1 ng/ml, lo que indica que el cuerpo lúteo ha adquirido su plena funcionalidad, a partir de este momento y hasta el día 18 aproximadamente del ciclo, el cuerpo lúteo secretará progesterona (Hansel y Convey, 1983; Quirke *et al.*, 1979).

Se ha observado que en el cuerpo lúteo, el número de receptores para LH se encuentra al máximo hasta el diestro medio del ciclo estral. Sin embargo, las células lúteas grandes no obstante que tienen receptores para LH no responden adecuadamente al estímulo de ésta, aunque son ellas las que secretan cantidades considerables de progesterona; mientras que las células lúteas pequeñas si responden a dosis crecientes de LH, incrementándose así la secreción de progesterona (Niswender *et al.*, 1994). El incremento en la concentración de progesterona asegura un ambiente uterino para mantener la gestación, evitando las contracciones, cerrando el cérvix y modificando las características del moco cervical, volviéndolo más viscoso, lo que evita el paso de agentes extraños al interior del útero. Estimula, además, la secreción del oviducto y útero de sustancias que son importantes para la nutrición y desarrollo del embrión hasta el momento de la implantación y el desarrollo de la circulación placentaria. Como consecuencia, una cantidad insuficiente de progesterona puede ser una causa de mortalidad embrionaria temprana (Bazer *et al.*, 1994; Hansel y Convey, 1983; Quirke *et al.*, 1979).

## **2.2 Progesterona y sus efectos**

La progesterona es una hormona esteroide que principalmente se produce en el cuerpo lúteo. El control crónico de la progesterona es a consecuencia de la LH, ya que ejerce un estímulo a largo plazo en las células lúteas, así como en las concentraciones de RNAm para la síntesis de 3 $\beta$ -HSD (3 $\beta$ -hydroxisteriodeshidrogenase), P450scc (Side-Chain Cleavage Cytocrome P-450) y la proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda (StAR) (Niswender, 2002). Otras funciones de la progesterona son las de suprimir el sistema inmune del útero,

evitar contracciones del útero, cerrar el cervix y modificar las características del moco cervical volviéndolo más viscoso (Spencer *et al.*, 2004).

La producción de progesterona involucra al colesterol y algunas enzimas, P450scc y 3 $\beta$ -HSD, necesarias para su síntesis (Díaz *et al.*, 2002). La principal fuente de colesterol se encuentra en las lipoproteínas circulantes, en particular las lipoproteínas de alta densidad y las de baja densidad (Rajapaksha *et al.*, 1997), debido a que la síntesis *de novo* es insuficiente para mantener la alta producción de progesterona. Posterior al pico preovulatorio de LH hay un incremento en la expresión de RNAm y formación del P450scc (Niswender *et al.*, 2000), el cual se encuentra en la membrana mitocondrial interna y cataliza la conversión de colesterol en pregnenolona dentro de la mitocondria y rápidamente es movilizadada al citoplasma, posteriormente al retículo endoplásmico liso donde es convertida a progesterona por la enzima 3 $\beta$ -HSD y finalmente es difundida a la circulación hacia sus órganos blanco (Hanukoglu, 1992).

La progesterona ejerce una retroalimentación negativa en el eje hipotálamo-hipofisiario, ocasionando una disminución en la secreción de gonadotropinas, y en particular en la frecuencia de pulsos de LH (Chabbert-Buffet *et al.*, 2000). En la hipófisis reduce los receptores a GnRH por una disminución del RNAm que codifica al receptor (Bauer-Dantoin *et al.*, 1995); además, provoca una disminución en la cantidad de LH liberada en respuesta a GnRH, así como la disminución en la expresión de genes que codifican para la subunidad  $\beta$  de LH (Brann *et al.*, 1993).

Llevada a cabo la fertilización, se observa que las secreciones hormonales específicas interactúan con determinados factores para desencadenar el desarrollo del embrión.

La progesterona actúa en el útero estimulando y manteniendo las funciones necesarias para el desarrollo embrionario temprano, esto con la finalidad de llevar a cabo la implantación, placentación y desarrollo fetal. De acuerdo a esto se ha afirmado que el control endocrino para la síntesis de proteínas uterinas durante el desarrollo embrionario temprano está influenciado principalmente por la acción de la progesterona, la cual es la responsable de los cambios cualitativos y

cuantitativos en el ambiente uterino, controlando la síntesis y secreción de por lo menos diez proteínas (Spencer, *et al.*, 2004). Hay algunas de ellas identificadas, como la uteroferrina y la proteína unida al retinol (RBP) que, en su orden, son fuente de hierro y retinol para el *conceptus*, la superfamilia de las serpinas y algunos factores de crecimiento (Lee *et al.*, 1998). Según esto se asume que deficiencias de progesterona podrían causar que el endometrio sea deficiente en cuanto a la nutrición histotrópica o “leche uterina”, fuente disponible para el crecimiento, mantenimiento y supervivencia del *conceptus* (embrión con todas sus membranas asociadas) (Spencer *et al.*, 2004).

Los factores que comprometen el desarrollo embrionario y el subsiguiente crecimiento fetal son complejos ya que involucran procesos como la proliferación celular, el desarrollo y mantenimiento del cuerpo lúteo, las funciones del oviducto y del útero, la implantación y vascularización del embrión (Thatcher *et al.*, 1984). La progesterona durante la fase lútea inhibe la expresión de algunas moléculas de la familia de los factores de crecimiento como al factor de crecimiento endotelio vascular (VEGF), y a sus receptores específicos, que son normalmente estimulados durante la fase folicular por acción del estradiol (Cullinan-Bove *et al.*, 1993).

Durante los primeros estadios de división celular desde una célula hasta el blastocisto temprano alrededor del día 7 al 8, el embrión se encuentra encerrado en la zona pelúcida, donde sus requerimientos para mantenimiento se basan en el piruvato y oxalacetato que los obtiene de la glucosa utilizada como sustrato energético (Araújo *et al.*, 2005; Thatcher *et al.*, 1984). El factor de crecimiento parecido a la insulina tipo I (IGF-I) podría estar involucrado en el proceso de descenso embrionario, ya que el RNAm que codifica para IGF-I ha sido encontrado en el oviducto bovino durante esta fase de migración (Matsui *et al.*, 1997).

### 2.3 Regresión del cuerpo lúteo en bovinos

La regresión lútea es consecuencia de la liberación púlsatil de PGF2 $\alpha$  desde el útero, esta hormona actúa sobre el cuerpo lúteo produciendo cambios que conducen a su degeneración. La PGF2 $\alpha$  actúa directamente en las células lúteas grandes ya que solo ellas poseen receptores para esta hormona (Wiltbank y Niswender, 1992). El mecanismo por el cual se inicia la síntesis y secreción de la PGF2 $\alpha$  depende de una interacción entre el cuerpo lúteo, los folículos ováricos y el útero (McCracken *et al.*, 1984).

El desarrollo del mecanismo luteolítico es influenciado por el estradiol. La circulación de estrógenos en bovinos está presente en forma de estrona, sulfato de estradiol, 17 $\alpha$  y 17 $\beta$  estradiol (Singh *et al.*, 1992). La evidencia directa de la importancia del estradiol en el control de la regresión del cuerpo lúteo en la vaca, se muestra en el estudio en que la destrucción de los folículos bovinos (electrocauterización y aplicación de rayos "X" en los folículos visibles de ambos ovarios) prolongaron la vida media del cuerpo lúteo (Villa-Godoy *et al.*, 1985). Adicionalmente, Salfen *et al.* (1999) demostraron la influencia del estradiol sobre el cuerpo lúteo al administrarlo tres veces al día durante cuatro días antes de que empezará la segunda oleada folicular (día 15 del ciclo estral) provocando luteólisis temprana. Además Pritchard *et al.* (1994) encontraron que altas concentraciones de estradiol en los días 14 al 17 postservicio afectan negativamente el porcentaje de concepción. Por esto, es probable que además de bajos niveles de progesterona, altos niveles de estradiol puedan estar asociados con la muerte embrionaria temprana; sin embargo, en el trabajo hecho por Mann *et al.* (1995) las concentraciones plasmáticas de estradiol y progesterona entre vacas gestantes y vacías fueron similares.

En un trabajo se midió el diámetro del folículo mayor con ultrasonografía en 335 vacas durante los días 12-14, y se encontró que el porcentaje de concepción fue mayor en las vacas que tuvieron folículos < de 15 mm (49.7) que en las vacas con folículos > 15 mm (37.1) (P < 0.05). Asimismo, las vacas gestantes tuvieron

menor diámetro folicular ( $12.8 \pm 0.41$  mm) que las vacas no gestantes ( $14.1 \pm 0.38$  mm) ( $P < 0.05$ ). El mecanismo por el cual la dinámica folicular posterior al servicio pudiera influir en la fertilidad se desconoce, pero puede especularse una asociación con el mecanismo de regresión del cuerpo lúteo. Se conoce que la cantidad de progesterona secretada por el cuerpo lúteo y la concentración de estradiol determinan la sensibilidad del mecanismo de secreción de la  $PGF2\alpha$ , de tal forma que éste resulta más sensible a menores niveles de progesterona y a concentraciones altas de estradiol. Entonces, la presencia de folículos grandes estaría haciendo más sensible el disparador de la secreción de  $PGF2\alpha$  (Mateos *et al.*, 2002).

La progesterona influye en el control del desarrollo del mecanismo luteolítico, inhibiendo el desarrollo de receptores a estradiol y oxitocina en el endometrio que son necesarios para la secreción de  $PGF2\alpha$  (Salfen *et al.*, 1999). Esta inhibición dura 12 días del diestro, inmediatamente después hay una regulación a la baja (down regulation) en los receptores de progesterona, finalizando así este bloqueo, permitiendo entonces un rápido incremento en los receptores endometriales para oxitocina, que es una de las tres principales hormonas implicadas en el control de la secreción de  $PGF2\alpha$  (Robinson *et al.*, 1989; Lamming y Mann, 1995; Pritchard *et al.*, 1994).

En vacas con bajas concentraciones sanguíneas de progesterona esta inhibición es menos efectiva y el mecanismo luteolítico se desarrolla más temprano, permitiendo menos tiempo para que el embrión produzca suficiente interferon-tau para evitar la luteólisis (Mann *et al.*, 1995). Sin embargo, en algunos estudios la baja concentración de progesterona no afectó la gestación. Esta variabilidad puede ser debida a muchos factores como pueden ser: una posible estimulación luteotrópica por parte del embrión, un aumento crónico del efecto luteolítico del útero, un incremento de la función lútea, y por la calidad del folículo que ovuló (Robinson *et al.*, 1989; Kastelic, 1994; Singh *et al.*, 1992; Lamming y Mann, 1993). Al principio de la luteólisis hay una declinación precipitada en la concentración de progesterona en la sangre y hay pérdida de peso en el cuerpo lúteo, durante este

proceso hay cambios morfológicos que incluyen, acumulación de gotas lipídicas en el citoplasma de las células lúteas chicas y grandes, degeneración de capilares y un incremento en el número de lisosomas primarios (Braden *et al.*, 1988; Farin *et al.*, 1986; Knickerbocker *et al.*, 1988).

McCracken *et al.* (1984) propusieron un modelo que explica el mecanismo por el cual se establece la secreción pulsátil de PGF2 $\alpha$ : la neurohipófisis libera oxitocina en forma pulsátil y uno de estos pulsos estimula la liberación de PGF2 $\alpha$ . Este primer pulso de prostaglandina, el cual es de baja magnitud, estimula la liberación de oxitocina de origen lúteo. Así se establece un mecanismo de retroalimentación positiva entre estas dos hormonas. La oxitocina estimula la liberación de PGF2 $\alpha$ , pero al mismo tiempo la alta concentración de oxitocina provoca la pérdida de la sensibilidad del endometrio, con lo que después de un tiempo deja de secretar PGF2 $\alpha$ . El intervalo entre pulsos de PGF2 $\alpha$  está determinado por la pérdida de la sensibilidad del endometrio a la oxitocina y por el tiempo que tarda en recuperarla. Así, el mecanismo de retroalimentación positiva se interrumpe y vuelve a establecerse hasta que pasan 6 horas, tiempo suficiente para que el endometrio recupere sensibilidad a la oxitocina, por este motivo los pulsos de PGF2 $\alpha$  se presentan en intervalos de 6-8 horas (McCracken *et al.*, 1984).

El cuerpo lúteo no siempre mantiene una vida media normal, porque puede haber una regresión lútea prematura. Esta fase lútea corta ha sido bastante estudiada en la pubertad y durante la transición del anestro posparto a la ciclicidad. Este fenómeno se da como resultado de una liberación prematura de PGF2 $\alpha$  desde el útero (Hansel y Convey, 1983; Quirke *et al.*, 1979).

La asociación de la función lútea con la falla en la concepción no solo depende del efecto que pudiera tener la progesterona (P<sub>4</sub>) sobre el desarrollo embrionario, sino que se asocia con la falla en el reconocimiento materno de la gestación de tal forma que una vaca que tiene una buena función del cuerpo lúteo mantiene una concentración alta de progesterona que inhibe la expresión de genes para los receptores de estrógenos y oxitocina, bloqueando la activación de el mecanismo de inicio de secreción de PGF2 $\alpha$ ; mientras otra vaca con una fase lútea subnormal

no bloquea la acción del estradiol en el útero por lo cual el mecanismo que inicia la secreción de la PGF2 $\alpha$  es más sensible (Lamming y Mann, 1993; Mann *et al.*, 1995). Bajo estas circunstancias, el establecimiento y mantenimiento de la gestación en las vacas con fases lúteas subnormales se encuentra doblemente en desventaja, ya que por un lado al haber menos progesterona el desarrollo del embrión será más lento y tendrá menor capacidad para producir interferón-tau (IFN- $\tau$ ), y por otra parte, los mecanismos que inician la secreción pulsátil de PGF2 $\alpha$  son más sensibles debido a la relación anormal entre progesterona y estrógenos (Lamming *et al.*, 1989; Thatcher *et al.*, 1994).

#### **2.4 Reconocimiento materno de la gestación**

El reconocimiento materno de la gestación se considera como una interacción entre la unidad materna (útero) y el embrión, que produce las señales necesarias que la madre requiere para mantener la gestación. Este diálogo ocurre en varias etapas críticas durante la preñez, pero el proceso determinante es regulado por el embrión y tiene como propósito evitar la secreción de PGF2 $\alpha$ . El efecto antiluteolítico del embrión es la causa primaria para mantener el cuerpo lúteo, la producción de progesterona y para que la gestación continúe (Bazer *et al.*, 1994; Thatcher *et al.*, 1994).

El signo necesario para mantener la gestación es un interferón de origen trofoblástico producido justo cuando el embrión empieza a alargarse aproximadamente a los 15 mm de longitud (entre los días 14 a 19 de gestación). Esta sustancia se conoce como interferón-tau (IFN $\tau$ ) que es una proteína compuesta de 172 aminoácidos. El incremento en su producción ocurre al mismo tiempo en que ocurriría la luteólisis en animales ciclando, pero puede ser detectado desde el día 12 hasta por lo menos el día 38 de la gestación (Bazer *et al.*, 1994; Thatcher *et al.*, 1994). Las principales acciones del IFN- $\tau$  son: estabilizar los receptores endometriales a progesterona, regular la disminución de los

receptores de estradiol e inhibir la síntesis de los receptores para oxitocina lo cual evita la síntesis de  $\text{PGF2}\alpha$ , además de tener una potente actividad antiviral y antiproliferativa (Bazer *et al.*, 1994).

Un mecanismo antiluteolítico complementario inducido por el interferón-tau consiste en la regulación del metabolismo lipídico dentro del endometrio. Se ha encontrado que el interferón-tau secretado por el embrión inhibe la actividad endometrial de la fosfolipasa A y/o la cicloxigenasa, que son enzimas necesarias para la síntesis de la  $\text{PGF2}\alpha$  (Thatcher *et al.*, 1994).

La administración de  $\text{IFN-}\tau$  en vacas inseminadas antes de que se produzca la luteólisis, se ha usado como una manera para compensar la deficiencia potencial en la secreción de  $\text{IFN-}\tau$  por un embrión que está retardado en su desarrollo. Una alternativa ha sido usar el interferón recombinante bovino ( $\text{rbIFN-}\tau$ ) que tiene una similitud aproximadamente del 50% en la secuencia de la cadena de aminoácidos que el  $\text{IFN-}\tau$  producido naturalmente por el embrión de la vaca (Bazer *et al.*, 1994). Sin embargo hasta la fecha, las cantidades de  $\text{rbIFN-}\tau$  producidos en el laboratorio han sido insuficientes para comprobar en campo sus efectos potenciales para aumentar la fertilidad en las vacas (Bazer *et al.*, 1994).

Por otro lado, hay otras proteínas secretadas por el endometrio, como los componentes del sistema factor de crecimiento parecido a la Insulina (IGF), que estimulan el desarrollo del embrión y juegan un papel importante en el proceso del reconocimiento materno de la gestación, por lo que receptores para IGF se encuentran en embriones en desarrollo temprano en bovinos y ovinos (Lucy *et al.*, 1995). El sistema de IGF está compuesto de dos ligandos, IGF-1 e IGF-2, dos receptores, IGF-1R y IGF-2R, y en por lo menos seis proteínas de unión, IGFBP (Clemmons, 1997). Los IGFs realizan una amplia gama de funciones, incluyendo la diferenciación celular, la estimulación de la mitogénesis, y la prevención de la apoptosis. Los miembros de esta familia se sabe que juegan un papel clave en la proliferación celular y la diferenciación los tejidos en el útero y en el embrión (Keller *et al.*, 1998). Los efectos proliferativos de los IGFs están específicamente

controlados por la progesterona, principalmente a través de la regulación de la proteína I de unión a IGF (IGFBP-I) (Giudice *et al.*, 1991).

## **2.5 Muerte embrionaria**

Se considera como muerte embrionaria a la pérdida del embrión durante el periodo que va desde la fertilización hasta la completa diferenciación de los órganos (organogénesis), la cuál ocurre aproximadamente a los 45 días de gestación (Manspeaker *et al.*, 1989).

El tiempo exacto en que ocurre la muerte embrionaria es todavía controversial, pero muchas pérdidas ocurren entre los días 14 a 17 de gestación, que es el periodo que va desde el alargamiento del trofoblasto hasta la unión de la microvellosidad de la membrana externa del trofoblasto (Corión) al endometrio (Kastelic, 1994). Otro periodo crítico es durante los primeros siete días de desarrollo, tiempo en el cual ocurren la mayor parte de las anomalías del desarrollo (Zavy, 1994).

Los factores que pueden causar mortalidad embrionaria se clasifican dentro de dos categorías principales: Factores genéticos; raza, entrecruzamientos y grupos sanguíneos. Factores ambientales; nutrición, clima, infecciones, alteraciones hormonales, estrés calórico, endotoxinas y procesos inflamatorios en el endometrio (Thatcher *et al.*, 1994).

## **2.6 Alteraciones hormonales que causan muerte embrionaria**

En el desarrollo embrionario temprano, el embrión bovino es dependiente del ambiente que existe en el oviducto y útero. La progesterona al unirse a sus receptores en el endometrio desencadena una cascada de eventos que incluyen: cambios en la expresión de genes (decremento en la síntesis de receptores para estrógenos y oxitocina, aumento en la síntesis de receptores para progesterona), un incremento en la permeabilidad de iones, aminoácidos o metabolitos del

plasma y la síntesis de factores de crecimiento (Revelli *et al.*, 1998; Duras *et al.*, 2005), lo que favorece un ambiente propicio para el desarrollo del embrión.

Algunos estudios muestran que las vacas subfértiles tienen afectada la función del cuerpo lúteo (Lamming y Darwash, 1998; Mann y Lamming, 1999; Mann y Lamming, 2001; Stronge *et al.*, 2005). Así, las bajas concentraciones en el día cinco posinseminación (Shelton *et al.*, 1990; Lamming y Darwash, 1995; Larson *et al.*, 1997) o un retraso en el aumento de las concentraciones de progesterona entre los días 4 y 5 posteriores al servicio (Larson *et al.*, 1997; Lamming y Darwash, 1998; Starbuck *et al.*, 1999) se han asociado con reducción en el porcentaje de concepción. Además, se ha observado que estas condiciones tienen como resultado el desarrollo de embriones de menor tamaño que secretan cantidades inferiores de interferón-tau, lo cual disminuye la habilidad del embrión para inhibir el mecanismo luteolítico (Kerbler *et al.*, 1997; Mann y Lamming, 2001). Por otro lado, la inserción de un CIDR en los días 5 al 9 incrementa 4 veces el tamaño del trofoblasto y 6 veces las concentraciones uterinas de interferón-tau en vacas no lactantes (Mann *et al.*, 2006).

Los factores que afectan las concentraciones séricas de progesterona en la vaca lechera están relacionados con el incremento de la producción láctea y con los efectos metabólicos que esto desencadena. Varios estudios en vacas lecheras han evaluado las concentraciones circulantes de esteroides y se han encontrado diversos resultados. Sartori *et al.* (2004) encontraron en vacas (60 días postparto) y en vaquillas que las concentraciones de progesterona circulantes eran menores en las vacas; sin embargo, el volumen lúteo fue mayor en las vacas que en las vaquillas. Una explicación a este efecto es que en las vacas en producción el metabolismo de las hormonas esteroides se incrementa conforme aumenta la producción láctea.

También, se ha asociado el incremento de la producción láctea con un aumento de consumo de materia seca. Se ha propuesto que el incremento en el consumo de materia seca aumenta el flujo sanguíneo en el hígado, el metabolismo hepático y por consiguiente aumenta el catabolismo de progesterona y estradiol.

Sangsritavong *et al.* (2002) encontraron que previo al momento de alimentarse, el flujo sanguíneo hepático es mayor en vacas en lactación ( $1561 \pm 57$  L/hr) que en vacas no lactantes ( $747 \pm$  L/hr) de la misma edad y talla. El flujo hepático, así como el metabolismo de progesterona y estrógenos se incrementó inmediatamente después del consumo de alimento en vacas en lactación y no lactantes, también se observó que el metabolismo de progesterona y estradiol fue 2.3 veces mayor en vacas en lactación. Así, los cambios en el metabolismo de los estrógenos y la progesterona en respuesta a la alimentación fueron inmediatos y parecen estar relacionados con cambios agudos en el flujo sanguíneo hepático. Estos resultados indican, que incluso en un mismo nivel de producción hormonal, las vacas lecheras que consumen mayor cantidad de materia seca pueden tener baja concentración de esteroides circulantes.

Para determinar el momento en el que bajas concentraciones de progesterona afectan el desarrollo embrionario, se han realizado varios estudios. Mann *et al.* (1998), demostraron que el retraso en el incremento de las concentraciones de progesterona posterior a la ovulación, resulta en un desarrollo asincrónico del embrión, mientras que Lamming y Darwash (1995), encontraron que dicho retraso en el incremento de las concentraciones de progesterona afectó negativamente el porcentaje de concepción. El mismo grupo de investigadores demostraron que las concentraciones de progesterona en leche se incrementaron más de 3 ng/ml del día 4 al 5 posinseminación en vacas que resultaron gestantes en comparación con las que no gestaron (Lamming y Darwash, 1998). Por otro lado, Mann y Lamming (2001) mostraron que el retraso de un día (entre los días 4 a 5) en el aumento postovulatorio de las concentraciones de progesterona, tuvo como resultado la recuperación de embriones de menor tamaño y que estos producían menores cantidades de interferón-tau en el día 16, mientras que la administración de progesterona durante la fase lútea temprana, favorece el desarrollo embrionario y la secreción de interferón-tau (Mann *et al.*, 2006).

La función lútea durante el diestro temprano se ha relacionado con las características del folículo preovulatorio, así, se ha observado que las vacas que

tienen bajas concentraciones de progesterona entre los días 4 a 5 posteriores a la ovulación, presentan un aumento del intervalo entre la luteólisis y la ovulación subsiguiente, una disminución del diámetro del folículo, además de una reducción de las concentraciones de estradiol durante la fase folicular previa a la ovulación (Mann *et al.*, 2001; Wathes *et al.*, 2003; Robinson *et al.*, 2005). Robinson *et al.* (2005), promovieron la ovulación de folículos <10 mm (folículos pequeños) y >10 mm (folículos grandes) mediante la manipulación de la dinámica folicular y encontraron que las vacas que ovularon folículos grandes y con fases foliculares más cortas, desarrollaron un cuerpo lúteo con mayor capacidad de producción de progesterona.

## **2.7 Tratamientos que se utilizan para mejorar el porcentaje de concepción**

Hay diversos tratamientos a nivel de campo para mejorar la fertilidad, los cuales tienen como objetivo disminuir la mortalidad embrionaria; sin embargo, debido a que la etiología de la falla en la concepción es diversa, los resultados en estos tratamientos han sido poco consistentes.

### **2.7.1 Uso de GnRH**

En los últimos años se ha evaluado extensamente el uso de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) sobre el mejoramiento de la fertilidad de vacas repetidoras (vacas con más de tres inseminaciones infértiles). El mecanismo del tratamiento con GnRH al momento de la inseminación puede estar relacionado con la sincronización de la ovulación con el servicio y con el mejoramiento de la luteinización y la capacidad secretora del cuerpo lúteo (Kharche y Srivastava, 2007). Gustafsson *et al.* (1986) encontraron que las novillas repetidoras presentaban un atraso en el momento de la liberación del pico preovulatorio de LH y una menor cantidad de LH secretada, y como consecuencia se incrementaba el intervalo entre la presentación del estro y la ovulación, lo cual asociaron con

reducción de la fertilidad. McDougall *et al.* (1995), propusieron que un incremento en las concentraciones de LH puede ser inducido por el tratamiento con GnRH y de esta forma corregir los problemas de ovulación retardada.

Un manejo en los hatos lecheros es la aplicación de GnRH en la mitad del ciclo (entre los días 11 a 14) posterior a la inseminación. La administración de GnRH durante el ciclo estral tiene como resultado un incremento en la liberación de LH (McDougall *et al.*, 1995), lo cual causa la ovulación y/o luteinización de los folículos dominantes presentes en el ovario. La eliminación de la fuente de estradiol en el diestro tardío ocasiona un retraso en la regresión del cuerpo lúteo, lo que favorecería a los embriones retrasados en desarrollo (Díaz *et al.*, 1998).

La aplicación de GnRH también se puede realizar en el día cinco posinseminación, lo cual provoca la ovulación o luteinización del folículo dominante de la primera oleada folicular y la formación de un cuerpo lúteo accesorio, de esta forma se incrementan las concentraciones de progesterona. Aunque la cantidad de estudios realizados es limitada y los resultados son inconsistentes (Howard *et al.*, 2006), Peters (2005) encontró en varios estudios un aumento global del 18% en el porcentaje de concepción en vacas repetidoras que eran tratadas con GnRH.

### **2.7.2. Aplicación de progesterona**

La progesterona tiene un papel clave durante el desarrollo embrionario, ya que estimula la producción de secreciones endometriales necesarias para el crecimiento del embrión (Geisert *et al.*, 1992), así, bajas concentraciones de dicha hormona se han relacionado con pérdidas embrionarias durante los primeros 16 días posinseminación, pobre desarrollo embrionario, y bajas concentraciones de interferón-tau (Mann y Lamming, 2001), mientras que la suplementación con progesterona mejora el desarrollo del embrión; sin embargo, los resultados en fertilidad son variables.

En un análisis de diferentes estudios realizado por Mann y Lamming (1999), en los cuales se suplementó con progesterona en diferentes días posinseminación,

encontraron que cuando el tratamiento con progesterona comienza seis días posterior al servicio, no existe un efecto en el porcentaje de concepción, sin embargo, cuando el tratamiento inicia antes del día seis se observa un aumento de 10% en el porcentaje de concepción. Además, si la tasa de concepción inicial es baja (<50%), el tratamiento con progesterona incrementa hasta un 19% el porcentaje de concepción; sin embargo, cuando esta es alta (>50%), no se observa ningún efecto. Los autores concluyen que la suplementación temprana con progesterona en vacas de baja fertilidad mejora significativamente la tasa de concepción, una posible explicación a esto es que las vacas con baja fertilidad tienen un incremento posovulatorio de progesterona insuficiente lo que compromete el desarrollo del embrión, el cual es incapaz de secretar interferón-tau en cantidades adecuadas y no se establece el mecanismo de reconocimiento materno de la gestación.

### **2.7.3 Aplicación de la hCG**

La gonadotropina coriónica humana (hCG) tiene una actividad similar a la LH y ocupa los receptores para LH en la membrana de las células del cuerpo lúteo, activa segundos mensajeros y aumenta la síntesis de progesterona (Santos *et al.*, 2001), y en el ganado bovino ha sido utilizada para mejorar la fertilidad, ya que incrementa la síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo (Nishigai *et al.*, 2001).

El tratamiento con hCG en los días 4 a 7 del ciclo induce la ovulación del folículo dominante de la primera oleada folicular y la formación de un cuerpo lúteo accesorio. Nishigai *et al.* (2001) demostraron que después de aplicar hCG en el día 5, las concentraciones circulantes de progesterona se incrementaban a las 6, 24 y 48 horas posteriores a la aplicación, y esto se atribuye a que la hCG puede tener efecto sobre el cuerpo lúteo existente. En vacas a las cuales se han tratado con hCG durante la primera oleada folicular, se ha observado un aumento en el volumen lúteo total tres días después del tratamiento (Sianangama y Rajamahendran, 1996; Díaz *et al.*, 1998; Nishigai *et al.*, 2001), lo que sugiere la

formación de un cuerpo lúteo accesorio, lo cual coincide con un incremento en las concentraciones circulantes de progesterona.

Díaz *et al.* (1998) al tratar vacas con hCG en el día 5 del ciclo, encontraron un aumento en las concentraciones plasmáticas de progesterona de los días 8 a 17, y las máximas concentraciones se presentan en el día 15. El diámetro del cuerpo lúteo inducido fue menor en comparación con el espontáneo y el inicio en la regresión de los cuerpos lúteos es simultáneo. Urzúa *et al.* (2009), realizaron un estudio en donde administraron hCG cinco días después de la inseminación, provocaron la formación de un cuerpo lúteo accesorio, un incremento en las concentraciones de progesterona y aumento de el porcentaje de concepción en vacas de primer servicio. Resultados similares a los observados por Santos *et al.* (2001).

#### **2.7.4 Modificación de la dinámica folicular**

En la mayoría de los ciclos estrales en el bovino (>95%) se presentan dos o tres oleadas foliculares (Savio *et al.*, 1988; Sirois y Fortune, 1998; Adams *et al.*, 2008). En ambos patrones de ciclos (dos o tres oleadas), la emergencia de la primera oleada folicular ocurre en el día de la ovulación. La emergencia de la segunda oleada ocurre en el día 9 o 10 en los ciclos de dos oleadas, o en los días 8 o 9 en los ciclos de tres oleadas; mientras que la emergencia de la tercera oleada se presenta en los días 15 o 16 del ciclo. En el diestro, los folículos dominantes sufren atresia, debido al efecto de retroalimentación negativa de la progesterona sobre la liberación de LH. El inicio de la luteólisis se presenta aproximadamente en el día 16 en los ciclos de dos oleadas foliculares o en el día 19 en ciclos con tres oleadas, lo cual determina ciclo estrales de 19-21 días o de 22-23 días de duración, respectivamente (Adams *et al.*, 2008).

La inducción de la ovulación del folículo dominante de la primera oleada folicular, promueve el incremento en las concentraciones de FSH, esto permite el reclutamiento de los folículos antrales (Badinga *et al.*, 1992) y la emergencia

temprana de la segunda oleada folicular. En diferentes estudios, se ha observado que en la segunda oleada folicular de las vacas tratadas con hCG presentan un folículo dominante de menor tamaño y que ejerce menor tiempo de dominancia (Sianangama y Rajamahendran, 1996; Díaz *et al.*, 1998; Nishigai *et al.*, 2001), lo que se atribuye al aumento de las concentraciones plasmáticas de progesterona presentes en el grupo tratado con hCG, lo que provoca la reducción en la secreción de LH, y como resultado una disminución en el crecimiento del folículo dominante (Díaz *et al.*, 1998). En diferentes trabajos se ha observado que el periodo de selección del folículo dominante es similar en el grupo tratado con hCG y el testigo. Sin embargo, la duración de la segunda oleada folicular es más corta en el grupo hCG y también el tiempo que ejerce dominancia el folículo dominante de la segunda oleada es menor (Sianangama y Rajamahendran, 1996; Díaz *et al.*, 1998; Nishigai *et al.*, 2001). Díaz *et al.* (1998) observaron una emergencia temprana de la tercera oleada folicular en las vacas tratadas con hCG en comparación en el grupo testigo (día 14.7 vs 18.2).

La presencia de dos o tres oleadas foliculares posterior a la inseminación puede ser un factor que influya en la fertilidad, ya que el día donde ocurrirá la luteólisis difiere en vacas con dos o tres oleadas. Debido a que el mecanismo de reconocimiento materno de la gestación ocurre entre los días 16 a 17, las vacas inseminadas que tienen tres oleadas foliculares poseen mayores probabilidades de rescatar el cuerpo lúteo (Díaz *et al.*, 1998). Además en diferentes estudios, las vacas tratadas con hCG tienen un aumento en promedio de un día en la duración del ciclo (Sianangama y Rajamahendran, 1996; Díaz *et al.*, 1998; Nishigai *et al.*, 2001), aunque este aumento no ha sido estadísticamente significativo. Sin embargo, el alargamiento de la fase lútea puede influir en la fertilidad, permitiendo así que los embriones establezcan el mecanismo de reconocimiento materno de la gestación .

## **JUSTIFICACIÓN**

El porcentaje de concepción en las vacas lecheras es más bajo en los dos primeros servicios que en el tercero y cuarto servicios. La baja fertilidad se ha asociado con la disminución de las concentraciones séricas de progesterona provocadas por la elevada tasa de eliminación hepática de las hormonas esteroides que sufren las vacas en lactación. Por lo tanto, se justifica que la aplicación exógena de progesterona en el día cinco después de la inseminación favorecería el desarrollo embrionario y la secreción suficiente de interferón-tau, lo cual se reflejaría en un incremento del porcentaje de concepción en vacas de primero y segundo servicios.

## **HIPÓTESIS**

La inyección de 500 mg de progesterona vía intramuscular en el día cinco posinseminación incrementa el porcentaje de concepción en vacas lecheras de primero y segundo servicios.

## **OBJETIVO**

Determinar el efecto de la inyección vía intramuscular de 500 mg de progesterona en el día cinco posinseminación en el porcentaje de concepción en vacas lecheras de primero y segundo servicios.

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1 Localización**

El estudio se realizó en el Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca S.A. (CAITSA), ubicado en el municipio de Tizayuca, Hidalgo. Localizado geográficamente en las coordenadas 19°5'25" latitud norte y 98°58'8" longitud oeste a 2200 m.s.n.m. El clima de la región es templado subhúmedo con lluvias en verano, clasificado como Cwb(e), con una precipitación anual promedio de 624 mm y temperatura media anual de 16.3°C, (García, 1987).

#### **3.2 Animales y diseño experimental**

Se utilizaron 384 vacas de diferente número de partos (1-9 partos), de primero y segundo servicios, provenientes de 18 establos que cuentan con un manejo alimenticio, reproductivo y sanitario similar. Las vacas estuvieron en estabulación y recibieron una alimentación de acuerdo a sus requerimientos nutricionales. Al presentar el estro se inseminaron bajo el programa am-pm/pm-am. En todos los casos se evaluó la presencia de tono uterino y moco cervical, así como los signos externos del estro.

#### **3.3 Tratamientos**

En el día cinco posinseminación las vacas se asignaron aleatoriamente a uno de los siguientes tratamientos: P<sub>4</sub> (n= 193), las vacas recibieron por vía intramuscular 500 mg de progesterona (Progesterona 50 mg/ml, Fort Dodge); Testigo (n= 191), no recibieron progesterona. Entre el día 40 y 50 después de la inseminación se realizó el diagnóstico de gestación mediante palpación rectal (Figura 1).



#### 4. RESULTADOS

Las 384 vacas que se incluyeron en el estudio promediaron (media  $\pm$  error estándar)  $105.84 \pm 3.46$  días en leche,  $2.42 \pm 0.41$  número de parto y  $1.42 \pm 0.025$  número de servicios. La inyección de progesterona tendió ( $P= 0.08$ ) a incrementar el porcentaje de concepción global ( $P_4=43\%$  vs. Testigo= $34\%$ ) (Cuadro 1).

**CUADRO 1.** Porcentaje de concepción global de vacas tratadas con progesterona cinco días después de la inseminación y grupo testigo.

TRATAMIENTO	n	GESTANTES	PORCENTAJE DE CONCEPCIÓN	P
Progesterona*	193	82	43	0.08
Testigo**	191	65	34	

\*Se administraron 500 mg de progesterona ( $P_4$ ) vía intramuscular.

\*\* No se administró progesterona ( $P_4$ ).

Al comparar el efecto del tratamiento de acuerdo con número de servicios se encontró que el tratamiento con progesterona incrementó el porcentaje de concepción sólo en las vacas de primer servicio ( $P_4= 46\%$  vs. Testigo=  $32\%$ ;  $P=0.02$ ; Cuadro 2). Además, se encontró que el porcentaje de concepción fue mayor ( $P= 0.05$ ) en las vacas tratadas con progesterona que tuvieron al momento del tratamiento menos de 100 días en leche, pero no en las vacas tratadas con más de 100 días en leche (Cuadro 3). En cambio, al hacer la comparación de acuerdo a la paridad de las vacas no se incremento el porcentaje de concepción ( $P= 0.213$  y  $P= 0.206$ , primíparas y múltiparas respectivamente) (Cuadro 4).

**CUADRO 2.** Porcentaje de concepción por número de servicio de vacas tratadas con progesterona cinco días después de la inseminación y grupo testigo.

NÚMERO DE SERVICIO	TRATAMIENTO	n	GESTANTES	% CONCEPCIÓN	P
Primero	Progesterona*	109	50	46	0.02
	Testigo**	114	36	32	
Segundo	Progesterona*	84	32	38	0.95
	Testigo**	77	29	38	

\*Se administraron 500 mg de progesterona (P<sub>4</sub>) vía intramuscular.

\*\* No se administró progesterona (P<sub>4</sub>).

**CUADRO 3.** Porcentaje de concepción de acuerdo a los días en leche de vacas tratadas con progesterona cinco días después de la inseminación y grupo testigo.

DÍAS EN LECHE	PROMEDIO DÍAS EN LECHE	TRATAMIENTO	n	GESTANTES	% CONCEPCIÓN	P
≤ 100	68.99	Progesterona*	119	52	44	0.05
	69.20	Testigo**	109	34	31	
>100	165.81	Progesterona*	74	30	41	0.72
	153.88	Testigo**	82	31	38	

\*Se administraron 500 mg de progesterona (P<sub>4</sub>) vía intramuscular.

\*\* No se administró progesterona (P<sub>4</sub>).

**CUADRO 4.** Porcentaje de concepción por paridad en vacas tratadas con progesterona cinco días después de la inseminación y grupo testigo.

PARIDAD	TRATAMIENTO	n	GESTANTES	% CONCEPCIÓN	P
Primíparas	Progesterona*	46	21	45.65	0.213
	Testigo**	73	25	34.25	
Multíparas	Progesterona*	147	61	41.50	0.206
	Testigo**	118	40	33.90	

\*Se administraron 500 mg de progesterona (P<sub>4</sub>) vía intramuscular.

\*\* No se administró progesterona (P<sub>4</sub>).

## 5. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio indican que el tratamiento con 500 mg de progesterona cinco días después de la inseminación incrementa el porcentaje de concepción en vacas de primer servicio y con menos de 100 días en leche.

La baja fertilidad en la vaca lechera se observa en todos los servicios; sin embargo, los dos primeros servicios posparto son los menos fértiles (Tixi *et al.*, 2009). Una causa de este fenómeno es la cercanía con el puerperio y con el balance energético negativo (BEN). Algunas patologías del puerperio ocasionan disminución del porcentaje de concepción del primer servicio posparto (Chebel *et al.*, 2004). El BEN afecta el desarrollo folicular, las características del cuerpo lúteo y el potencial del ovocito para desarrollar un embrión viable (Villa-Godoy *et al.*, 1988; Leroy, *et al.*, 2008).

Villa-Godoy *et al.* (1988), realizaron un estudio con el objetivo de determinar la relación entre el balance de energía y la secreción de progesterona en vacas en lactación y encontraron, que 81% de las vacas estaban en balance energético negativo en la semana 4 posparto. Además, los días posparto al NADIR y la magnitud del NADIR del balance de energía se asociaron con una reducción de la concentración de progesterona en el segundo y tercer ciclo después del parto. Asimismo, Leroy *et al.* (2008), concluyen que los efectos retardados de un estado de balance energético negativo puede resultar en una insuficiente funcionalidad del cuerpo lúteo, que lleva a concentraciones de progesterona subnormales. En este contexto, la diferencia del resultado del tratamiento entre vacas de primero y segundo servicios puede explicarse, en parte, a que las vacas de primer servicio pudieron estar expuestas a mayores factores que afectan la viabilidad embrionaria, lo cual fue mitigado por el efecto favorable de la progesterona (Cuadro 2). Esta explicación se sustenta, también, cuando se compara el porcentaje de concepción entre vacas con el número de días en leche al momento del tratamiento. Aquí, se observó un efecto positivo de la progesterona en las

vacas tratadas en los primeros 100 días en leche, pero no en vacas de más de 100 días (Cuadro 3). Otro factor asociado con la diferencia en la respuesta relacionada con los días en leche, puede ser la cercanía con el periodo en donde el consumo de materia seca se incrementa y la producción de leche es mayor, lo cual determina la tasa de eliminación hepática de la progesterona (Sangsrivong *et al.*, 2002; Vasconcelos *et al.*, 2003; Sartori *et al.*, 2004); cabe señalar que en el primer tercio de lactación se produce alrededor del 45% del total de la leche de la lactancia (32 y 23% en los otros dos tercios) (Hazard, 1990).

Así, es posible que los primeros 100 días en leche sea el periodo en el cual la participación relativa de los niveles subnormales de progesterona, como causa de infertilidad, sea mayor que después del día 100 posparto. De esta manera, la administración exógena de progesterona en los primeros 100 días realmente subsanaría la carencia de esta hormona, mientras que su administración después del día 100 posparto pasaría desapercibida. Estos resultados son congruentes con el estudio de Urzúa *et al.* (2009), en el cual trataron con hCG en el día cinco después de la inseminación vacas de diferente número servicios; en este estudio la hCG incrementó las concentraciones de progesterona, pero solo aumentó el porcentaje de concepción en vacas de primer servicio.

En el presente estudio, no se determinaron las concentraciones de progesterona; sin embargo, en estudios con vacas a las cuales se les provocó la luteólisis (Flores, 2011) o en vacas inseminadas en un programa similar al presente trabajo (Roque *et al.*, 2012), el tratamiento con 500 mg de progesterona aumentó las concentraciones sanguíneas de progesterona durante 48 a 72 horas. Los resultados del presente estudio permiten proponer que hay un periodo fisiológico en el cual el incremento en las concentraciones séricas de progesterona tiene un efecto favorable en el desarrollo del embrión, lo cual se reflejó en mayor porcentaje de concepción. Sin embargo, estos resultados no son confirmados en el estudio de Roque *et al.* (2012), en el cual el mismo tratamiento no afectó el porcentaje de concepción en vacas de diferente número de servicios.

Debido a la naturaleza diversa de los factores que ocasionan falla en la concepción en la vaca lechera, el éxito o fracaso de algunos tratamientos para mejorar la fertilidad dependen de las condiciones de cada hato y de factores individuales. Por ejemplo, Meraz y Hernández (2011) encontraron que el porcentaje de concepción en vacas que perdieron condición corporal en el periodo transcurrido entre la inseminación y el diagnóstico de gestación (40 días) aumentó con la aplicación de progesterona cinco días después del servicio y no se observó efecto en la fertilidad de vacas que conservaron o mantuvieron la condición corporal. En los estudios de Urzúa *et al.* (2009), y Santos *et al.* (2001), en los cuales trataron vacas con hCG en el día cinco después de la inseminación, se observó que el tratamiento solo incrementó el porcentaje de concepción en las vacas que perdieron condición corporal en los siguientes 30 días poservicio.

Por otra parte, la inyección de progesterona pudo modificar la dinámica folicular y con ello inducir un ciclo estral con tres oleadas foliculares. La supresión de la frecuencia de LH siguiente a la inyección de progesterona ocasiona recambio folicular en vacas bajo protocolos de sincronización del estro (Adams *et al.*, 1992). En diferentes estudios (Díaz *et al.*, 1998; Nishigai *et al.*, 2001) se ha observado que la aplicación de hCG en el día 5 del ciclo aumenta la proporción de vacas con tres oleadas foliculares, lo que provoca un alargamiento del ciclo estral de 1 a 2 días. Este efecto se puede deber a que la hCG elimina el folículo dominante de la primera oleada folicular, permitiendo la emergencia temprana de la segunda oleada. También se ha observado que el folículo dominante de la segunda oleada ejerce menor tiempo de dominancia, lo que promueve la emergencia de la tercera oleada y la extensión de 1 a 2 días de la fase lútea (Díaz *et al.*, 1998). Ahmad *et al.* (1997), encontraron que las vacas que presentaron 3 oleadas foliculares posinseminación tuvieron mejor fertilidad en comparación con las vacas que presentaron 2 oleadas. Así, es posible que la inyección de progesterona haya provocado recambio folicular y la inducción de un ciclo con tres oleadas foliculares; de ser así, se observaría un alargamiento de la fase lútea y con ello,

mayor tiempo para que los embriones retrasados en su desarrollo alcanzaran el estado óptimo para establecer el mecanismo de reconocimiento materno de la gestación (Díaz *et al.*, 1998).

## **6. CONCLUSIÓN**

Se concluye que bajo las condiciones del presente estudio la inyección de progesterona en el día cinco después de la inseminación incrementa el porcentaje de concepción en vacas de primer servicio, con menos de 100 días en leche.

## 7. REFERENCIAS

Adams GP, Jaiswal R, Singh J, Malhi P. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*. 2008; 69:72-80.

Adams GP, Matteri RL, Ginther OJ. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. *J. Reprod. Fert.* 1992; 95: 627-640.

Ahmad N, Townsend EC, Dailey RA, Inskip EK. Relationships of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three waves of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cow and heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 1997; 49: 13-28.

Araújo M, Vale V, Ferreira A, Sá W, Barreto J, Filho L. Secreção de interferon-tau em embriões bovinos produzidos in vitro frescos e congelados. Interferon tau secretion in cattle embryos in vitro fertilized before and after cryopreservation. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2005; 57: 751-756.

Badinga L, Driancourt MA, Savio JD, Wolfenson D, Drost M, De La Sota RL, Thatcher WW. Endocrine and ovarian responses associated with the first-wave dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.* 1992; 47:871-883.

Bauer-Dantoin AC, Weiss J, Jameson JL. Roles of estrogen, progesterone and gonadotropin releasing hormone (GnRH) in the control of pituitary GnRH receptor gene expression at the time of the preovulatory gonadotropin surges. *Endocrinology*. 1995; 36: 1014-1019.

Brann DW, O'conner JL, Wade MF, Zamorano PL, Mahesh VB. Regulation of anterior pituitary gonadotropin subunit mRNA levels during the preovulatory gonadotropin surge: a physiological role of progesterone in regulating LH- $\beta$  and FSH- $\beta$  mRNA levels. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 1993; 46: 427-437.

Bazer FW, Ott TL, Spencer TE. Pregnancy recognition in ruminants, pigs and horses: signal from the thophoblast. *Theriogenology*. 1994; 41: 79-94.

Braden TD, Gamboni F, Niswender GD. Effects of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  induced luteolysis on the populations of cells in the ovine corpus luteum. *Biol. Reprod.* 1988; 39: 245-253.

Butler WR. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 2000; 60-61: 449-457.

Carter F, Forde N, Duffy P, Wade M, Fair T, Crowe MA, Evans AC, Kenny DA, Roche JF, Lonergan P. Effect of increasing progesterone concentration from day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reprod. Fertil. Dev.* 2008; 20: 368-375.

Chabbert-Buffet N, Skinner DC, Caraty A, Bouchard P. Neuroendocrine effects of progesterone. *Steroids.* 2000; 65: 613-620.

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. *Anim. Reprod. Sci.* 2004; 84:239–255.

Clemmons DR. Insulin-like growth factor binding proteins and their role in controlling IGF actions. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1997; 8: 45–62

Cullinan-Bove K, Koos R. Vascular endothelial growth factor/ vascular permeability factor expression in the rat uterus: rapid stimulation by estrogen correlates with estrogen-induced increases in uterine capillary permeability and growth. *Endocrinology.* 1993; 133: 829-837.

Díaz FJ, Anderson LE, Wu YL, Rabot A, Tsai SJ, Wiltbank MC. Regulation of progesterone and prostaglandin F<sub>2</sub>  $\alpha$  production in the CL. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2002; 191: 65-80.

Díaz T, Schmit EJP, Thatcher MJ, Thatcher WW. Human chorionic gonadotropin-Induced alterations in ovarian follicular dynamics during estrus cycle of heifers. *J. Anim. Sci.* 1998; 76: 1929-1936.

Diskin MG, Morris DG. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reprod. Domest. Anim.* 2008;43:260–267.

Duras M, Mlynarczuk J, Kotwica J. Non-genomic effects of steroids on oxytocin stimulated intracellular mobilization of calcium and on prostaglandin F2 and E2 secretion from bovine endometrial cells. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators.* 2005; 76:105-116.

Farin CE, Moeller CL, Sawyer HR, Gamboni R, Niswender GD. Morphometric analysis of cells types in the ovine corpus luteum throughout the estrus cycle. *Biol. Reprod.* 1986; 35: 1299-1308.

Flores OA. Porcentaje de Concepción en vacas lecheras tratadas con progesterone en el día 5 después de la inseminación. Tesis de Licenciatura. FMVZ-UNAM. México. 2011.

García E. Modificación al sistema de clasificación climática de Köppen. México, D.F. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. 1987.

Geisert RD, Morgan GL, Short EC, Zavy MT. Endocrine events associated with endometrial function and conceptus development in cattle. *Reprod. Fertil. Dev.* 1992; 4: 301-305.

Giudice LC, Lamson G, Rosenfeld RG, Irwin JC. Insulin-like growth factor-II (IGF-II) and IGF binding proteins in human endometrium. *Ann. NY Acad. Sci.* 1991; 626:295–307

Gustafsson H, Larsson K, Kindahl H, Madej A. Sequential endocrine changes and behavior during estrus and metoestrus in repeat breeder and virgen estrus and metoestrus heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 1986; 10:261-273.

Hansel W, Convey ME. Physiology of the estrous cycle. *J. Anim. Sci.* 1983; 57 (Supp 12): 404-424.

- Hanukoglu I. Steroidogenic Enzymes; structure, function and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. *Steroid Biochem. Molec. Biol.* 1992; 43: 779-804.
- Hazard, TS. Sabe Ud. como alimentar sus vacas lecheras. *Investigación y Progreso Agrícola Carillanca.* 1990; 9(4):38-41.
- Helmer SD, Hansen PJ, Thatcher WW, Johnson JW, Bazer FL. Intrauterine infusion of highly enriched bovine trophoblast protein-1 complex exerts an antiluteolytic effect to extend hábeas luteum lifespan in cyclic cattle. *J. Reprod. Fertil.* 1989; 87: 89-101.
- Howard JM, Manzo R, Dalton JC, Frago F, Ahmadzadeh A. Conception rates and serum progesterone concentration in dairy cattle administered gonadotropin releasing hormone 5 days after artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 2006; 95:224-233.
- Karsch FJ, Moenter SM, Caratay A. The neuroendocrine signal for ovulation. *Anim. Reprod. Sci.* 1992; 28: 329-341.
- Kastelic JP. Noninfectious embryonic loss in cattle. *Food Animal Practice.* 1994; 89: 584-589.
- Keller ML, Roberts AJ, Seidel GE Jr. Characterization of insulin-like growth factor-binding proteins in the uterus and conceptus during early conceptus elongation in cattle. *Biol. Reprod.* 1998; 59: 632–642, 1998
- Kerbler TL, Buhr MM, Jordan LT, Leslie KE, Walton JS. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-t synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology.* 1997; 47: 703-714.
- Kharche SD, Srivastava SK. Dose dependent effect of GnRH analogue on pregnancy rate of repeat breeder crossbred cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2007; 99:196-201.

Knickerbocker JJ, Wiltbank MC, Niswender GD. Mechanisms of luteolysis in domestic livestock. *Dom. Anim. Endocrinol.* 1988; 5: 91-107.

Lamming GE, Darwash AO, Back HL. Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. *J. Reprod. Fertil.* 1989, Suppl 37: 245-252.

Lamming GE and Mann GE. Progesterone concentration affects the development of the luteolytic mechanism in the cow. *J. Reprod. Fertil.* 1993; Abstract Ser 11:8.

Lamming GE and Mann GE. A dual role for progesterone in the control of cyclicity in ruminants. *J. Reprod. Fertil.* 1995; Suppl 49: 561-566.

Lamming GE, Darwash AO. Effect of interluteal interval on subsequent luteal phase length and fertility in post partum dairy cows. *Biol. Reprod.* 1995; 53: 63 abstr.

Lamming GE, Darwash AO. The use of milk progesterone profiles to characterize components of subfertility in milked dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 1998; 52:175-190.

Larson SF, Butler WR, Bruce Currie W. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 2007;102: 172-179.

Larson SF, Buttler WR, Currie WB. Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 1997; 80:1288-1295.

Lee RSF, Wheeler TT, Peterson AJ. Large format, two dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of ovine periimplantation uterine luminal fluid proteins: identification of aldose reductase, cytoplasmic actin, and transferrin as conceptus synthesized proteins. *Biol. Reprod.* 1998; 59: 743-752.

Leroy JL, Opsomer G, Van Soom A, Goovaerts IG, Bols PE. Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part I. The

importance of negative energy balance and altered corpus luteum function to the reduction of oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows. *Reprod. Domest. Anim.* 2008;43:612-622.

Lucy MC, Thatcher WW, Collier RJ, Simmen FA, Ko Y, Savio JD, Bandinga L. Effects of somatotropin on the conceptus, uterus, and ovary during maternal recognition of pregnancy in cattle. *Dom. Anim. Endocrinol.* 1995; 12:73-82.

Mann GE, Lamming GE, Fray MD. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-t production in cow. *Veterinary Journal.* 2006; 171: 500-503.

Mann GE, Lamming GE, Fray MD. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. *Anim. Reprod. Sci.* 1995; 37: 121-131.

Mann GE, Lamming GE, Robinson RS, Wathes DC. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *J. Reprod. Fertl.* 1998; 54 (Suppl).

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. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reprod Dom Anim.* 1999; 34: 269-274.

Manspeaker JE, Robl MG, Edwards GH. Mineral nutrition and early embryonic mortality in the bovine animal. *The Bovine Practitioner.* 1989; 24:154-156.

Mateos RA, Hernández-Cerón J, Morales-Roura JS, Rodríguez TG. Tamaño folicular, progesterona y estradiol plasmáticos en los días 12-14 posinseminación y porcentaje de concepción de vacas Holstein. *Arch. Zootec.* 2002; 51: 327-334.

Matsui M, Takahashi Y, Hishinuma M, Kanagawa H. Stimulation of the development of bovine embryos by insulin and IGF-I is mediated through the IGF-I receptor. *Theriogenology* 1997; 48: 605-616.

McCracken JA, Shramm W, Okulicz WC. Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF<sub>2</sub> $\alpha$  from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.* 1984; 7: 31-35.

McDougall S, Williamson NB, Macmillan KL. GnRH induces ovulation of a dominant follicle in primiparous dairy cows undergoing anovulatory follicle turnover. *Anim. Reprod. Sci.* 1995; 39: 205-214.

Meraz NT, Hernández CJ. La fertilidad en vacas que pierden condición corporal después de la inseminación puede ser beneficiada con la aplicación de progesterona en el día cinco postservicio. XXXV Congreso Nacional de Buiatría. León, Guanajuato. México. 2011.

Meyer MD, Drost M, Schmitt EJP. Badinga L, Hansen PJ, Thatcher WW. Recombinant bovine interferon-t extends corpus luteum lifespan, reduces uterine secretion of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  and causes dose-dependent effects on body temperature and plasma progesterone in cattle. *J. Anim. Sci.* 1994; 72 (Suppl. 1) 281 Abstract.

Nishigai M, Takamura A, Kamomae H, Tanaka T, Kaneda Y. The effect of human chorionic gonadotropin on the development and function of bovine corpus luteum. *J. Reprod. Dev.* 2001; 47:283-294.

Niswender GD, Juenguel JL, McGuire WJ, Belfiore CJ, Wiltbank MC. Luteal function: The Estrous cycle and early pregnancy. *Biolo. Reprod.* 1994; 50: 239-247.

Niswender GD, Juenguel JL, Silva PJ, Rollynson MK, McIntush EW. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiolo. Rev.* 2000; 80: 1-29.

Niswender GD. Molecular control of the luteal secretion of progesterone. *Reproduction*. 2002; 123: 333-339.

Peters AR. Veterinary clinical application of GnRH questions of efficacy. *Anim. Reprod. Sci.* 2005; 88:155-167.

Plante C, Thatcher WW, Hansen PJ. Alteration of estrous cycle length, ovarian function and oxytocin induced release of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  by intrauterine and intramuscular administration of recombinant bovine interferon-t to cow. *J. Reprod. Fertil.* 1991; 93: 375-384.

Price CA, Webb R. Ovarian responses to human chorionic gonadotropin treatment during the oestrus cycle in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 1989; 86:303-308.

Pritchard JY, Schrick FN, Inskeep EK. Relationship of pregnancy rate to peripheral concentrations of progesterone and estradiol in beef cows. *Theriogenology*. 1994; 42: 247-259.

Quirke JF, Hanrahan JP, Gosling JP. Plasma progesterone levels throughout the oestrous cycle and release of LH at oestrus in sheep with different ovulation rates. *J. Reprod. Fertil.* 1979; 55: 37-44.

Rajapaksha WR, McBride M, Robertson L, O'Shaughness PJ. Sequence of the bovine HDL-receptor (SR-BI) cDNA and changes in receptor mRNA expression during granulosa cell luteinization in vivo and in vitro. *Mol. Cell Endocrinol.* 1997; 134(1): 59-67.

Revelli A, Massobrio M, Tesarik J. Non-genomic actions of steroids hormones in reproductive tissues. *Endocri. Rev.* 1998; 19:3-17.

Robinson NA, Leslie KE, Walton JS. Effect of treatment with progesterone on pregnant rate and plasma concentration of progesterone in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 1989; 72: 202-207.

Robinson RS, Hammond AJ, Hunter MG, Mann GE. The induction of a delayed post-ovulatory progesterone rise in dairy cows: a novel model. *Dom. Anim. Endocri.* 2005; 28: 285-295.

Roque CI, Gutiérrez CG, Montaldo H, Hernández-Cerón. Fertilidad de vacas lecheras de diferente número de servicios tratadas con progesterona en el día cinco después de la inseminación. XXXVI Congreso Nacional de Buiatría. Mérida, Yucatán. México, 2012.

Royal M, Mann GE, Flint APF. Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. *The Veterinary Journal.* 2000; 160:53-60.

Salfen BE, Cresswell JR, Xu ZZ, Bao B, Garverick HA. Effects of the presence of a dominant follicle and exogenous oestradiol on the duration of the luteal phase of the bovine estrous cycle. *J. Reprod. Fertil.* 1999; 115: 15-21.

Sangsrivong S, Combs DK, Sartori R, Armentano LE, Wiltbank MC. High feed intake increase liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17b in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2002; 85:2831–2842.

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. *J. Anim. Sci.* 2001; 79:2881-2894.

Sartori R, Haughian JM, Shaver RD, Rosa GJ, Wiltbank MC. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J. Dairy Sci.* 2004; 87:905-920.

Savio JD, Keenan L, Boland MP, Roche JF. Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fertil.* 1988; 3:663-671.

Shelton K, Gayerie De Abru MF, Hunter MG, Parkinson TJ, Lamming GE. Luteal inadequacy during the early luteal phase of subfertile cows. *J. Reprod. Fertil.* 1990; 90:1-10.

Sianangama PC, Rajamahendran R. Effect of hCG administration on day 7 of the estrus cycle on follicular dynamics and cycle length in cow. *Theriogenology*. 1996; 45:583-592.

Singh R, Sinha SPS, Setia. Oestrogens and progesterone status durin pregnancy and parturition in bovines: a review. *Indian Vet. Med. J.* 1992; 39: 308-317.

Sirois J, Fortune J. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle monitored by real time ultrasonography. *Biol. Reprod.* 1988;39:308-317.

Souza AH, Cunha AP, Silva EPB, Gümen A, Ayres H, Guenther JN, Wiltbank MC. Comparison of gonadorelin products in lactating dairy cows: Efficacy based on induction of ovulation of an accessory follicle and circulating luteinizing hormone profiles. *Theriogenology*. 2009; 72:271-279.

Spencer T, Burghardt R, Johnson G, Bazer FW. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Anim Reprod Sci* 2004; 839: 537–550.

Starbuck GR, Darwash AO, Lamming GE. The importance of progesterone during early pregnancy in the dairy cow. *Cattle Pract.* 1999; 7: 397-400.

Stronge AJH, Sreenan JM, Diskin MG, Mee JF, Kenny DA, Morris DG. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*. 2005; 64:1212-1224.

Thatcher W, Bartol F, Knickerbocker J, Curl J, Wolfenson D, Bazer F. Maternal recognition of pregnancy in cattle. *Dairy Sci.* 1984; 67: 2797– 2811.

Thatcher WW, Staples CR, Danet-Desnoyers G, Oldick B, Schmitt EP. Embryo health and mortality in sheep and cattle. *J. Anim. Sci.* 1994; 72 Suppl. 3: 16-30.

Tixi C, Villa Godoy A, Montaldo H, Posadas E, García C, Hernández Cerón J. Factores que afectan el porcentaje de vacas gestantes en el día 90 posparto en

vacas Holstein en estabulación. XXXIII Congreso Nacional de Buiatría. Chiapas, México. 2009.

Urzúa E, Gutierrez CG, Garza A, Corona C, Mapes G, Hernandez CJ. Pregnancy success and luteal function of lactating Holstein cows after hCG on day 5 after insemination. *J. Dairy Sci.* 2009; 92 suppl 1:443.

Vasconcelos JL, Sangsritavong S, Tsai SJ, Wiltbank MC. Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. *Theriogenology.* 2003; 60:795-807.

Villa-Godoy A, Ireland JJ, Wortman JA, Ames NK, Hughes TH, Fogwell RL. Effect of ovarian follicles on luteal regression in heifers. *J. Anim. Sci.* 1985; 60: 519-527.

Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chapin LT, Fogwell RL. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1988; 71:1063-1072.

Wathes DC, Taylor VJ, Cheng Z, Mann GE. Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. *Reprod. Suppl.* 2003; 61:219-237.

Wayne DW. Distribución ji-cuadrada y análisis de frecuencias, En: Bioestadística, bioestadística en ciencias de la salud, muestreo, probabilidad. Editorial Limusa Wiley. México. 2002.

Wiltbank MC and Niswender GD. Functional aspects of differentiation and degeneration of the steroidogenic cells of the corpus luteum in domestic ruminants. *Anim. Reprod. Scie.* 1992; 28: 103-110.

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.