



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

**PORCENTAJE DE CONCEPCIÓN DE VACAS LECHERAS
TRATADAS CON PROGESTERONA EL DÍA CINCO
POSINSEMINACIÓN**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

CARLOS IVÁN ROQUE VELÁZQUEZ

TUTOR PRINCIPAL:
JOEL HERNÁNDEZ CERÓN, FMVZ-UNAM

COMITÉ TUTOR:
CARLOS GUILLERMO GUTIÉRREZ AGUILAR, FMVZ-UNAM
MARIA TERESA SÁNCHEZ TORRES ESQUEDA
COLEGIO DE POSGRADUADOS

MÉXICO, D.F. MAYO 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 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.

Carlos Iván Roque Velázquez

DEDICATORIA

A mis padres

Porque cada palabra y ejemplo que me dieron a lo largo de mi vida y formación profesional ahora han adquirido sentido. Han sentado las bases de mi educación y una gran parte de este logro personal es también de ustedes.

A mis hermanos

Por todo lo que hemos vivido juntos. Han sido además, mis amigos y compañeros que han acompañado mi camino.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por formarme como profesionista.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para mis estudios.

A los miembros de comité tutor:

Al Dr. Joel Hernández Cerón por el apoyo que me ha brindado durante los años que llevo de conocerlo, por sus enseñanzas, su confianza y sobre todo por brindarme su amistad.

Al Dr. Carlos Gutiérrez Aguilar por contribuir al desarrollo de esta tesis y por los conocimientos brindados.

A la Dra. Teresa Sánchez Torres por su apoyo en la elaboración de esta tesis y por su aportación en mi formación.

Al personal de la Ex-hacienda de San Sebastián y del Rancho Loma Linda por darme la oportunidad de acercarme al ejercicio real de esta noble profesión y trabajar a su lado.

A mis compañeros del Departamento de Reproducción y de la cuenca lechera de Tizayuca, por su amistad y por los momentos que hemos compartido en la vida.

A los Médicos del Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca, por su apoyo y por ofrecerme un empleo donde pueda mantenerme económicamente y por permitirme aplicar los conocimientos adquiridos en mi vida profesional.

Al Dr. Oscar Ortiz asesor de Alpura por ofrecerme una visión diferente de la profesión y permitirme adquirir experiencia y conocimientos invaluable.

Este estudio fue financiado por el proyecto IN219811-3 de la Universidad Nacional Autónoma de México. Este trabajo fue posible gracias al apoyo del propietario del Rancho Ex-hacienda de San Sebastián (Tequixquiac, Edo. de México).

RESUMEN

El incremento temporal de las concentraciones séricas de progesterona entre los días cinco y nueve después de la inseminación favorece el crecimiento del embrión y la secreción de Interferón- β . En este estudio se probó si una sola inyección de progesterona en el día cinco después de la inseminación incrementa el porcentaje de concepción en vacas lecheras. Se utilizaron 855 vacas de diferente número de servicios y partos. En el día cinco después de la inseminación, las vacas se asignaron al azar a dos tratamientos: Progesterona (n= 427), recibieron una inyección de 500 mg de progesterona vía intramuscular; Testigo (n= 428), no recibieron progesterona. El diagnóstico de gestación se realizó mediante palpación rectal entre los días 40 y 50 después de la inseminación. Se determinaron las concentraciones de progesterona en seis vacas de cada grupo durante siete días a partir del día 5 posinseminación. El porcentaje de concepción global fue similar en las vacas tratadas con progesterona (32.1%) y las testigo (28.7%) [Riesgo relativo 0.87, Intervalo de confianza 95%: 0.64-1.18 (P=0.39)]. La interacción entre el tratamiento con el número de partos, número de servicios, tipo de puerperio, condición corporal y días en leche no afectó el porcentaje de concepción (P > 0.1). Las vacas que recibieron progesterona mostraron mayores concentraciones de progesterona en las siguientes 48 horas postratamiento. Se concluye que la inyección de progesterona cinco días después de la inseminación no mejora el porcentaje de concepción en vacas lecheras.

Palabras clave: Fertilidad, servicios, concepción, inseminación, progesterona, vacas lecheras.

ABSTRACT

The temporary increase of serum progesterone levels between days five and nine after insemination improves embryo development and interferon- τ secretion. In this study it was tested whether a single progesterone injection on day five after insemination increases pregnancy rate in dairy cows. Eight hundred and fifty five cows of different number of services and calvings were used. On day five after insemination, cows were randomly assigned in two treatments: progesterone (n = 427), they received an intramuscular injection of 500 mg of progesterone; control group (n = 428), did not receive progesterone. The pregnancy diagnosis was performed by rectal palpation between days 40 and 50 after insemination. Progesterone levels were determined in six cows of each group for seven days from day five after insemination. Global pregnancy rate was similar in cows treated with progesterone (32.1%) and the control group (28.7%) [Relative risk 0.87, confidence interval 95%: 0.64 – 1.18 (P = 0.39)]. The interaction between treatment with number of calvings, number of services, type of puerperium, body condition and days in milk did not affect pregnancy rate (P > 0.1). Cows that received progesterone showed higher progesterone levels in the following 48 hours after treatment. It is concluded that progesterone injection five days after insemination does not improve pregnancy rate in dairy cows.

Key words: Fertility, services, conception, insemination, progesterone, dairy cows.

CONTENIDO

	Página
DECLARACIÓN	I
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS	III
RESUMEN	IV
ABSTRACT	V
INDICE DE CUADROS Y FIGURAS	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Infertilidad de la vaca lechera	4
2.2. Disminución de la fertilidad y producción láctea	5
2.3 Reinicio de la actividad ovárica posparto	5
2.4. Factores asociados con la inseminación artificial	6
2.4.1 Infecciones en el aparato reproductivo	7
2.4.2 Muerte embrionaria	8
2.4.2.1 Muerte embrionaria temprana	9
2.4.2.2. Muerte embrionaria tardía	9
2.5 Desarrollo y sobrevivencia embrionaria	9
2.6 Factores que afectan la sobrevivencia embrionaria	11
2.6.1 Alteraciones genéticas	11
2.6.2 Factores ambientales	11
2.6.2.1 Estrés calórico	16
2.7 Dinámica Folicular	18
2.8 Balance Energético Negativo	19
3. HIPOTESIS	22
4. OBJETIVOS	23
4.1 Objetivo General	23
4.2 Objetivos específicos	23
5. MATERIAL Y METODOS	24
5.1 Localización	24
5.2 Animales	24
5.3 Tratamientos	25
5.4 Análisis estadístico	26
6 RESULTADOS	27
7 DISCUSIÓN	30
8 CONCLUSIONES	36
7 REFERENCIAS	37

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
CUADRO 1. Porcentaje de concepción de diferentes estudios donde se administró progesterona en distintos días posinseminación.	15
CUADRO 2. Porcentajes de gestación y riesgo relativo de gestación de acuerdo a las variables en el modelo final de regresión logística.	27
CUADRO 3. Intervalos entre servicios.	29
FIGURA 1. Promedio de las concentraciones séricas de progesterona de vacas tratadas con 500 mg de progesterona por vía intramuscular cinco días después de la inseminación, y testigos.	28

1. INTRODUCCIÓN

La fertilidad de las vacas lecheras ha disminuido en los últimos 30 años casi un punto porcentual por año, lo que ha coincidido con un incremento sostenido en la producción de leche (Butler, 1998; Lucy, 2007; Rodríguez *et al.*, 2009). Así, en los años 50 se lograba gestar a 60% de las vacas inseminadas mientras que actualmente el porcentaje de concepción es alrededor de 30% (Robinson *et al.*, 1989; Mann, 2001; Tixi *et al.*, 2009a).

El desempeño reproductivo se ha visto reducido por diferentes factores como es la pobre detección de estro, el estrés calórico, alimentación, balance energético negativo, tamaño del hato y nivel de producción (Lucy, 2001; Hernández y Gutiérrez, 2007). Aunque no hay una relación causa efecto entre la producción de leche y la baja fertilidad, se puede afirmar que la alta producción de leche es un factor de riesgo de falla reproductiva cuando interactúa con deficiencias en el manejo, particularmente con la nutrición. López-Gatius *et al.* (2006a) encontraron que las vacas con mayor producción de leche en el día 50 posparto tuvieron mayor probabilidad de quedar gestantes en los primeros 90 días posparto en comparación con las vacas de menor producción.

Las principales causas de la baja fertilidad son atribuidas a fallas en la fertilización y a la alta incidencia de muerte embrionaria (Diskin y Morris, 2008). Thatcher *et al.* (2006) observaron que cuando la muerte embrionaria ocurre antes del reconocimiento materno de la gestación, la presentación del siguiente estro es en un periodo de 21 a 24 días, lo cual corresponde a un ciclo estral normal.

Una de las causas de muerte embrionaria está relacionada con un retraso del desarrollo embrionario y con la subsiguiente reducción de la secreción de interferón- γ , por lo cual el embrión es incapaz de inhibir la luteólisis (Mann y Lamming, 1999; Mann y Lamming, 2001). El retraso del desarrollo embrionario puede estar determinado por la disminución de las concentraciones séricas de progesterona (Mann y Lamming 2001; Leroy *et al.*, 2008). Las vacas lecheras

muestran niveles subnormales de progesterona debido a que el cuerpo lúteo produce menos progesterona (Stronge *et al.*, 2005) y porque metabolizan más rápido las hormonas esteroideas (Sangsritavong *et al.*, 2002; Vasconcelos *et al.*, 2003; Sartori *et al.*, 2004, Wiltbank *et al.*, 2006). Se conoce que la progesterona estimula la producción de diferentes secreciones endometriales necesarias para el desarrollo del embrión (Geisert *et al.*, 1992). La administración de progesterona ha favorecido el desarrollo del embrión y la secreción de interferón- β , lo cual ha resultado en mejores índices de gestación (Garret *et al.*, 1988; Mann y Lamming 1999; Mann *et al.*, 2006; Carter *et al.*, 2008).

En la práctica existen varios enfoques para aumentar los niveles séricos de progesterona y, con ello, mejorar el porcentaje de concepción (Hernández-Cerón y Morales-Roura, 2001). En diversos estudios se ha administrado progesterona mediante implantes o dispositivos intravaginales con resultados variables (Van Cleef *et al.*, 1991; Larson *et al.*, 1995; Mann y Lamming, 1999, Larson *et al.*, 2007) (Cuadro 1). 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 posinseminación 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 incremento en los niveles de progesterona y mejoramiento del porcentaje de concepción (Santos *et al.*, 2001, Urzúa *et al.*, 2009).

Butler *et al.* (1996), encontraron que las concentraciones de progesterona plasmática fueron mayores entre los días 4 y 5 posinseminación en vacas gestantes en comparación con las vacas vacías. Se ha observado un efecto del tiempo después de la inseminación en que se administra el tratamiento con progesterona, de tal forma que si la suplementación se hace entre el día 5 al 9 posinseminación hay un efecto favorable en el desarrollo del embrión y en la secreción de Interferón- β , mientras que el mismo tratamiento entre los días 12 y 16, no tiene efecto. Estos últimos resultados permiten proponer que hay un

periodo fisiológico en el cual el aumento de los niveles séricos de progesterona podría favorecer la sobrevivencia embrionaria y, en consecuencia, el porcentaje de concepción (Mann y Lamming 1999, Mann *et al.*, 2006, Larson *et al.*, 2007).

Los dispositivos comerciales liberadores de progesterona en vacas de alta producción generan concentraciones séricas de progesterona entre 0.8 y 1 ng/mL (Cerri *et al.*, 2011), lo cual podría tener un efecto marginal en el desarrollo embrionario y puede ser causa de la inconsistencia de los resultados obtenidos. La inyección de 500 mg de progesterona en vacas en lactación ocasiona un incremento agudo mayor de 1 ng/mL con una duración entre 48 y 72 h (Flores *et al.*, 2013).

En el presente estudio se probó si la aplicación de progesterona el día cinco después de la inseminación incrementa el porcentaje de concepción en vacas lecheras.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Infertilidad de la vaca lechera

La intensa selección genética durante los últimos 40 años ha dado como resultado una vaca lechera con una alta eficiencia biológica para la producción de leche, sin embargo, esto ha traído como consecuencia una disminución de la fertilidad de hasta un punto porcentual por año durante las últimas cinco décadas (Butler *et al.*, 1998; Starbuck *et al.*, 2006; Lucy 2007). De esta manera durante los años 60 era posible gestar al 65 % de las vacas lecheras, mientras que en la actualidad el porcentaje de concepción oscila alrededor de 30% (Robinson *et al.*, 1989; Mann 2001; Tixi *et al.*, 2009b).

Es evidente que existe una correlación negativa entre la alta producción de leche y la fertilidad, sin embargo, la producción por sí misma no disminuye la fertilidad, sino que son los cambios metabólicos que impone la lactación, asociados con un manejo inadecuado de la alimentación y la industrialización de la producción lechera caracterizada por un aumento del número de vacas por hato (Villa-Godoy *et al.*, 1988; Lucy *et al.*, 1992; Butler, 2000; Hernández y Gutiérrez, 2007).

La baja fertilidad es provocada por la falla en la fertilización del ovocito y por la alta incidencia de muerte embrionaria temprana; se ha observado que entre 80 y 90% de los ovocitos es fertilizado; sin embargo, una alta proporción de los embriones muere antes del día 18 posinseminación (Diskin y Morris, 2008). De esta forma, dado que la muerte del embrión ocurre antes del reconocimiento materno de la gestación, las vacas regresan al estro en un periodo equivalente a un ciclo normal (Thatcher *et al.*, 2006).

Los factores que determinan la falla en la fertilización y la muerte embrionaria temprana son de naturaleza diversa, y están asociados a diferentes condiciones, entre las que se encuentran la producción de leche, balance energético negativo, alteraciones metabólicas, patologías del puerperio, manejo de la alimentación,

entre otros (Butler, 1998; Lucy, 2001; Sheldon *et al.*, 2006; Hernández y Gutiérrez, 2007).

2.2 Disminución de la fertilidad y producción láctea

Durante los últimos 30 años, la selección genética para la producción de leche ha tenido un avance considerable, debido a que entre 1985 y 2003, la ganancia fenotípica para la producción de leche por vaca por año fue de 193 kg para los Estados Unidos, 131 kg para los Países Bajos, 35 kg para Nueva Zelanda y 46 kg para Irlanda (Dillon *et al.*, 2006). A pesar de los diversos sistemas de producción, los criterios de selección genética y las condiciones climáticas de estos países, todos ellos reportan una disminución sustancial en el rendimiento reproductivo durante el mismo período. En los últimos años, el interés en los índices de selección para ganado Holstein se ha mantenido orientado hacia las características de producción, pero también se ha dirigido hacia los rasgos asociados con una mejor salud y fertilidad (Miglior *et al.*, 2005). Sin embargo, las vaquillas con mérito genético para la producción de leche similar a las vacas en lactación tienen mayor porcentaje de concepción (64% vs 39%, respectivamente), el cual se ha mantenido sin cambios (Pryce *et al.*, 2004). Por lo tanto, es razonable sugerir que la demanda de la producción tiene un impacto negativo muy alto sobre la fertilidad.

2.3 Reinicio de la actividad ovárica posparto

El periodo que transcurre del parto a la primera ovulación es uno de los parámetros más importantes que van a determinar la fertilidad. Existen estudios donde se muestra que las vacas que presentan más ciclos estrales antes del primer servicio son más fértiles (Butler y Smith, 1989; Darwash *et al.*, 2001). Los bajos porcentajes de concepción antes del día 50 posparto se deben a un ambiente uterino inadecuado, anormalidades del ovocito y alta incidencia de

muerte embrionaria temprana, es decir, los animales están sometidos a los efectos del balance energético negativo y a los problemas del puerperio (Sheldon *et al.*, 2006).

Una característica de la primera ovulación posparto es que no es acompañada de conducta estral, y el cuerpo lúteo que se desarrolla sufre regresión prematura, la cual ocurre entre los días 4 y 6 posteriores a la ovulación como consecuencia de la secreción prematura de PGF2 . La liberación anticipada de PGF2 se debe a que el útero no ha sido expuesto previamente a progesterona, por lo cual no se inhibe la síntesis de receptores para oxitocina. En estas condiciones, los receptores para oxitocina aparecen en el endometrio alrededor del día 5 después de la ovulación (Garverick *et al.*, 1992; Peter *et al.*, 1989). Sin embargo, la participación relativa de este fenómeno en la falla reproductiva es menor cuando se utilizan tratamientos hormonales para inducir la ciclicidad basados en progesterona, los cuales inducen una ovulación con estro, y la formación de un cuerpo lúteo de vida normal.

2.4 Factores asociados con la inseminación artificial

Existen factores que determinan la fertilidad que corren a cargo del personal, tal es el caso de la eficiencia en la detección de estros, momento de la inseminación artificial, manejo del semen y la técnica de inseminación. La baja detección de estros es un factor determinante en los sistemas de producción intensivos, pues de ello depende el número de animales inseminados, la baja tasa de preñez y el elevado número de días abiertos (Zarco, 1990).

El momento de inseminación es otro factor fundamental, ya que de esto depende que ocurra la fertilización, lo cual se relaciona con la viabilidad de los gametos, respecto al tiempo de la ovulación. Desde hace 50 años se aplica el esquema de inseminación AM-PM y PM-AM, lo cual significa que las vacas se detectan en estro en la mañana se inseminan en la tarde y las que se detecten en estro en la

tarde se inseminan en la mañana siguiente. Este sistema aporta buenos índices de fertilidad siempre que se cuente con una eficiente detección de estros.

En la práctica, es muy común que la inseminación se realice de manera tardía, ya que no se puede determinar el inicio del estro y se dejan transcurrir 12 horas para inseminar a las vacas, con un alto riesgo de que ya haya ocurrido la ovulación (Zarco y Hernández, 1996). En estas condiciones, el ovocito envejece y ocurren cambios en la conformación de glicoproteínas en la zona pelúcida, por lo cual el ovocito pierde la capacidad para bloquear la polispermia, dando origen a muerte temprana del embrión, debido a anomalías genéticas (Hunter, 1985; Zarco, 1990; Dransfield *et al.*, 1998).

La técnica de inseminación empleada es otro factor que hay que considerar, pues un problema muy frecuente es que los técnicos inseminadores modifiquen los protocolos de descongelación del semen y de higiene, lo cual, también, puede ocasionar una baja fertilidad (Zarco, 1990).

2.4.1 Infecciones en el aparato reproductivo

Las infecciones en el aparato reproductivo afectan la fertilidad, debido a que originan un retraso en la involución uterina y, en consecuencia, un periodo más largo del parto al primer servicio. Modifican, además, el ambiente uterino, lo cual afecta la viabilidad de los gametos y el desarrollo temprano del embrión, lo que se refleja en porcentajes de concepción disminuidos durante el primer servicio (McDougall *et al.*, 2007; Sheldon *et al.*, 2009a, 2009b). El mecanismo por el cual el proceso inflamatorio del útero afecta al embrión no está claro, sin embargo, pueden estar involucradas sustancias que se producen durante la inflamación como endotoxinas, prostaglandinas, citocinas, óxido nítrico y especies reactivas de oxígeno (Sheldon *et al.*, 2008, 2009a).

La metritis es un problema infeccioso que involucra todas las capas del útero, clínicamente se diagnostica por fiebre, descargas vulvares purulentas y fétidas. La

endometritis es la inflamación de la capa mucosa del útero, caracterizada por secreciones mucopurulentas, asociadas a persistencia por más de tres semanas posteriores al parto (LeBlanc, 2008; Sheldon *et al.*, 2008; Sheldon *et al.*, 2009a).

Los agentes patógenos comúnmente involucrados son *Fusobacterium necrophorum*, *Arcanobacterium pyogenes*, *E. coli* (Sheldon *et al.*, 2006).

La endometritis subclínica se define como una inflamación del endometrio sin signos externos de enfermedad. Así, al ser una condición que pasa desapercibida, las vacas afectadas terminan su periodo voluntario de espera y se integran al programa reproductivo (Kasimanickam *et al.*, 2004). Debido a la dificultad para establecer un diagnóstico de la endometritis subclínica con base en algún indicador externo, el diagnóstico se fundamenta en la determinación de la proporción de polimorfonucleares (neutrófilos) en muestras de células endometriales obtenidas mediante lavados uterinos o por medio de la recolección de células endometriales con la utilización de un cepillo endocervical. La endometritis subclínica afecta entre 20 y 50% de las vacas y disminuye la fertilidad en el primer servicio. En un estudio reciente en México, 33% de las vacas lecheras en estabulación padecen endometritis subclínica entre los días 35 y 40 posparto (García, 2013).

2.4.2 Muerte embrionaria

La muerte embrionaria se refiere a la pérdida de la gestación antes de que termine la organogénesis, proceso que finaliza alrededor de 42 días de gestación (Inskeep y Dailey, 2005). Se denomina muerte fetal a la pérdida de la gestación después del día 42 de gestación; en la práctica, la muerte fetal es la que ocurre después del diagnóstico de gestación (entre los días 45 y 50 post servicio) (Lucy, 2001).

La interrupción de la gestación, ya sea por muerte embrionaria o fetal, es la principal causa de la infertilidad en la vaca lechera (Vanroose *et al.*, 2000).

2.4.2.1 Muerte embrionaria temprana

La muerte embrionaria temprana es la pérdida del embrión antes de los 17 días, que es cuando se lleva a cabo el reconocimiento materno de la gestación, representa del 70 al 80% del total de las pérdidas embrionarias, por lo que se considera la principal falla reproductiva por encima de las fallas en la fertilización (Diskin y Morris, 2008; Mann y Lamming, 1999).

2.4.2.2 Muerte embrionaria tardía

Es aquella que se presenta entre los días 17 y 42 de la gestación, es decir, posterior al reconocimiento materno de la gestación y hasta el fin de la organogénesis y representa del 5 al 15% de las pérdidas embrionarias (Mann y Lamming, 1999; Lucy, 2001). Las vacas que pierden la gestación en esta etapa, tienen intervalos entre servicios de mayores de 25 días.

2.5 Desarrollo y sobrevivencia embrionaria

Las primeras divisiones del embrión ocurren en el oviducto. El embrión llega al útero en la etapa de 8 a 16 células (Grealley *et al.*, 1996). Con 5 a 6 días de edad el embrión se encuentra en el estadio de 16 a 32 células y estas células comienzan a agruparse para formar una esfera compacta denominada mórula. La compactación celular y las uniones intercelulares representan el primer estadio crítico en el cual el embrión comienza a comportarse como un organismo independiente. Entre los días 7 y 8 se forma una cavidad y las células del blastocisto inicial se diferencian en una masa celular interna, destinada a formar el feto, y el trofoblasto, destinado a formar la placenta (Sreenan *et al.*, 2001). Entre los días 8 y 9, el blastocisto expandido eclosiona de la zona pelúcida y continua expandiéndose antes de comenzarse a elongar y hacerse filamentoso en el día 13. El elongamiento ocurre próximo al momento del reconocimiento materno de la gestación y es

acompañado por un aumento en la actividad metabólica y secreción de Interferón- γ (Thatcher *et al.*, 2001; Mann *et al.*, 2006). La fijación del embrión al endometrio comienza aproximadamente en el día 19. La adhesión embrionaria se completa en el día 42. La sobrevivencia del embrión y establecimiento de la gestación involucra la comunicación activa y pasiva entre el embrión y el útero. El mantenimiento del cuerpo lúteo, como resultado de las señales embrionarias para la madre, asegura la producción continua de progesterona, la cual es necesaria para preparar al endometrio para la adhesión y nutrición embrionaria. La presencia del embrión entre los días 16 y 17 del ciclo inhibe en el endometrio la síntesis y liberación de PGF₂ (Geisert *et al.*, 1992; Thatcher *et al.*, 2001; Okuda *et al.*, 2002; Mann *et al.*, 2006), evitando así la luteólisis y la consecuente disminución en la producción de progesterona.

La mortalidad embrionaria se considera como una de las principales causas del aumento en el intervalo entre partos en los bovinos. La mayoría de las muertes embrionarias ocurre en los primeros días después de la fertilización y durante el proceso de adhesión. Estudios que evaluaron el desarrollo embrionario inicial en vacas en lactación, demostraron índices muy bajos de sobrevivencia embrionaria entre los días 3 y 14, especialmente en vacas con alta producción (Sartori, 2004; Wiltbank *et al.*, 2006).

En un estudio realizado por Sartori *et al.* (2002), se recolectaron embriones en el día 6 después de la inseminación, se encontró que solo 33% era viable durante el verano y 53% fue viable durante el invierno. En otro estudio similar, pero fuera de la época de verano, se encontró que la viabilidad embrionaria el día 5 después de la inseminación fue de 62% (Cerri *et al.*, 2004).

Las primeras observaciones hechas por Ayalon (1978) indicaron que las tasas de fertilización son elevadas en bovinos (mayor al 90%), sin embargo, una alta proporción de los ovocitos fertilizados muere antes del día 16 de gestación, encontrando que la mayoría de estas pérdidas ocurre dentro de los primeros siete días del desarrollo (Thatcher *et al.*, 1994; Zavy, 1994).

2.6 Factores que afectan la sobrevivencia embrionaria

2.6.1 Alteraciones genéticas

Las alteraciones genéticas son una de las principales causas de muerte embrionaria temprana; ya que pueden llegar a representar hasta el 15% de las pérdidas embrionarias. Pueden presentarse de forma espontánea durante la gametogénesis, fertilización y durante el desarrollo temprano del embrión (Zavy, 1994).

Durante la gametogénesis las anormalidades cromosómicas ocurren durante la meiosis, debido a errores en las divisiones celulares, dando origen a la supresión o duplicación de segmentos de cromosomas o de cromosomas completos, dando lugar a monosomias o trisomías (King, 1990).

Durante la fertilización pueden ocurrir anormalidades, como el caso de la polispermia, falla en la expulsión de los cuerpos polares, o la fertilización del óvulo con un cuerpo polar, originando embriones con poliploidia (Viuf *et al.*, 2001).

Durante el desarrollo embrionario puede presentarse la translocación Robertsoniana 1/29, lo que ocasiona bajos porcentajes de concepción, debido a que los gametos tienen la capacidad de fertilización, sin embargo, los embriones producidos no son capaces de adherirse en el endometrio (Schmutz *et al.*, 1997; Ghanem *et al.*, 2006).

2.6.2 Factores ambientales

Son aquellos factores que modifican el ambiente uterino, afectando negativamente el desarrollo embrionario, al influir en el desarrollo embrionario temprano y sobre la implantación del embrión; incluyen alteraciones hormonales, estrés calórico, alteraciones en el ambiente uterino e infecciones el aparato genital (Hernández y Zarco, 1998; De Rensis y Scaramuzzi 2003; Sugiyama *et al.*, 2003; Bridges *et al.*, 2005).

El embrión bovino en su etapa temprana es dependiente del ambiente que existe en el útero y oviducto. La progesterona estimula las funciones endometriales, la síntesis de factores de crecimiento, aumento en la permeabilidad de iones, aminoácidos o metabolitos del plasma, así como expresión de genes y la secreción de interferón- β , lo cual favorece el desarrollo embrionario (Revelli *et al.*, 1998; Chagas *et al.* 2002; Duras *et al.*, 2005).

Las bajas concentraciones de progesterona, ocasionadas por alteraciones en el cuerpo lúteo, son una causa importante de pérdidas embrionarias; se ha observado que vacas con baja fertilidad presentan una función lútea anormal durante los primeros 7 días posteriores a la inseminación (Hernández y Zarco, 1998; Mann y Lamming, 1999; Stronge *et al.*, 2005). Esta alteración es frecuente en animales sometidos bajo un balance energético negativo (Hernández y Zarco, 1998).

El reconocimiento materno de la gestación se lleva a cabo por la secreción por parte del embrión de una proteína llamada interferón- β (IFN- β) (Mann y Lamming, 1999; Spencer *et al.*, 2004 Starbuck *et al.*, 2006), cuya función es bloquear el proceso de luteólisis, este proceso lo logra el embrión al inhibir en el endometrio la expresión de receptores a estrógenos y oxitocina, evitando de esta manera la liberación de la PGF₂ (Spencer *et al.*, 2004; Weems *et al.*, 2006). En vacas con concentraciones subnormales de progesterona se observa un retraso en el desarrollo embrionario y una disminución en la secreción de IFN- β , y por lo tanto una falla en la inhibición de la luteólisis y, subsiguiente, pérdida de la gestación (Geisert *et al.*, 1992; Mann y Lamming, 1999; Thatcher *et al.*, 2001; Okuda *et al.*, 2002; Mann *et al.*, 2006).

Se ha informado que las vacas subfértiles tienen afectada la función del cuerpo lúteo (Mann y Lamming, 1999, 2001; Stronge *et al.*, 2005). Las bajas concentraciones de progesterona en el día 5 posinseminación o un retraso en el incremento de esta hormona entre los días 4 y 5 posterior al servicio, se han asociado con bajos porcentajes de concepción (Shelton *et al.*, 1990; Lamming y

Darwash, 1998; Butler *et al.*, 1996; Larson *et al.*, 2007). Asimismo, algunos estudios han reportado que los embriones resultado de este tipo de disfunción, presentan un retraso en su desarrollo, y por lo tanto cantidades menores de IFN- γ , por lo que no pueden inhibir el proceso de luteólisis (Mann y Lamming, 2001). Mann y Lamming (1999) compararon las concentraciones de progesterona en las vacas que tuvieron embriones poco desarrollados o embriones con mayor desarrollo, encontrando que las vacas con niveles subnormales de progesterona produjeron embriones menos desarrollados y con concentraciones menores de IFN- γ .

En los últimos años la alta producción láctea ha tomado una mayor relevancia como causa de la baja fertilidad. El elevado consumo de materia seca de las vacas altas productoras, tiene un efecto negativo sobre las concentraciones de progesterona. El mecanismo propuesto para este fenómeno, es que existe un incremento en el flujo sanguíneo hepático, con lo cual aumenta el catabolismo de las hormonas esteroides y por lo tanto aumenta su excreción (Parr *et al.*, 1993; Sartori *et al.*, 2004). Las vacas en lactación presentan un metabolismo 2.3 veces mayor en comparación con las vacas no lactantes. De esta manera, los cambios en el metabolismo de estrógenos y de progesterona como respuesta al aumento en el consumo de materia seca son inmediatos y parecen estar relacionados con cambios en el flujo sanguíneo hepático (Sangsrivong *et al.*, 2002; Wiltbank *et al.*, 2006; Walsh *et al.*, 2011).

En la práctica existen diversos enfoques para aumentar los niveles séricos de progesterona y, con ello, mejorar el porcentaje de concepción (Hernández-Cerón y Morales-Roura, 2001).

Mann y Lamming (1999) realizaron un meta análisis de diferentes estudios donde se ha suplementado progesterona mediante implantes y dispositivos intravaginales en vacas lecheras en diferentes días después del servicio, encontrando que la administración antes del día 6 mejora el porcentaje de concepción en comparación con su aplicación después del día 6 del servicio; contrastando con otros estudios,

donde los resultados van desde un incremento del porcentaje de concepción (Mann *et al.*, 2006; Carter *et al.*, 2008), estudios en los cuales no hay efecto (Chenault *et al.*, 2003) y trabajos en los que hay disminución de la fertilidad en las vacas tratadas (Macmillan *et al.*, 1991).

Mann *et al.*, (1998) demostraron que el retraso en el incremento de las concentraciones séricas de progesterona después de la ovulación, da lugar a un desarrollo asincrónico del embrión, y una disminución en el porcentaje de concepción; así mismo, se encontró que las concentraciones de progesterona en leche fueron mayores a 3 ng/mL entre los días 4 y 5 después del servicio en vacas que resultaron gestantes en comparación con las no gestantes (Lamming y Darwash, 1995, 1998). En otro estudio se encontró que las concentraciones de progesterona plasmática fueron mayores del día 4 al 5 posinseminación en vacas gestantes en comparación con las vacas vacías (Butler *et al.*, 1996); de la misma manera, el retraso de un día en el aumento de progesterona sérica entre los días 4 y 5, tuvo como resultado embriones de menor tamaño y con menor secreción de IFN- en el día 16, mientras que la administración de progesterona durante el diestro temprano, favorece el desarrollo embrionario y la secreción de IFN- (Mann *et al.*, 2001, 2006). Mann *et al.* (2001) aumentaron los niveles séricos de progesterona entre los días 5 y 9, y observaron un incremento en la longitud del trofoblasto de 4 veces y un incremento de 6 veces en las concentraciones uterinas de interferón- en comparación con las vacas testigo; sin embargo, el mismo tratamiento no tuvo efecto cuando se administró la progesterona entre los días 12 y 16.

El reinicio de la función ovárica después del parto se relaciona con el balance energético negativo y la producción de leche, problema que se origina durante el manejo del periodo de transición, donde la pérdida de más de un punto de condición corporal (escala 1 a 5) durante las primeras cuatro semanas posparto incrementa el periodo del parto a la primera ovulación (Butler, 2000).

Cuadro 1. Porcentaje de concepción de diferentes estudios donde se administró progesterona en distintos días posinseminación

Día del Tratamiento	Testigo	Tratados	Efecto	Referencia
0	5.0% (1/20)	35.0% (7/20)	30.00%	Henrick, 1953
4	16.7% (3/18)	46.8% (22/47)	30.10%	Dawson, 1954
3	29.9% (20/67)	41.8% (28/67)	11.90%	Wiltbank <i>et al.</i> , 1956
2-9	37.7% (26/69)	70.0% (49/70)	32.30%	Johnson <i>et al.</i> , 1958
5	45.0% (9/20)	73.7% (14/19)	18.70%	Sreenan and Diskin, 1983
10	61.1% (102/167)	65.4% (102/156)	4.30%	Sreenan and Diskin, 1983
5	40.0% (26/65)	47.5% (29/61)	7.50%	Diskin and Sreenan, 1986
5	30.0% (9/30)	60.7% (17/28)	30.70%	Robinson <i>et al.</i> , 1989
10	30.0% (9/30)	59.3% (16/27)	29.30%	Robinson <i>et al.</i> , 1989
5	57.1% (8/14)	68.0% (17/25)	10.90%	Walton <i>et al.</i> , 1990
10-16	67.0% (421/628)	64.3% (317/493)	-2.70%	Macmillan <i>et al.</i> , 1991
14	63.6% (300/472)	64.0% (329/514)	0.40%	Macmillan <i>et al.</i> , 1991
4	66.3% (309/466)	74.6% (344/461)	8.30%	Macmillan <i>et al.</i> , 1991
13	42.4% (39/92)	50.0% (18/36)	7.60%	Stevenson & Mee, 1991
7	53.6% (83/155)	57.9% (92/159)	4.30%	Van Cleef <i>et al.</i> , 1991
3	34.9% (22/63)	47.8% (32/67)	12.90%	Larson and Butler, 1995
10	53.3% (72/1351)	56.0% (75/134)	2.70%	Mann <i>et al.</i> , 1998
4-9	29.7% (166/559)	33.2% (101/307)	3.50%	Roque <i>et al.</i> , 2009
5	41% (114/280)	44.0% (124/281)	3.00%	Flores, 2010
5	34% (65/191)	43.0% (83/193)	9.00%	Ramírez, 2013

La utilización de biotecnologías reproductivas tales como tratamientos hormonales y transferencia de embriones provenientes de animales con elevada fertilidad han demostrado ser alternativas para el incremento de la eficiencia reproductiva. Además, el uso de técnicas adecuadas de IA y la reducción de problemas sanitarios, nutricionales y ambientales son condiciones esenciales para la obtención de elevados índices de fertilización y mantenimiento de la gestación, culminando en el éxito de los programas reproductivos en bovinos.

2.6.2.1 Estrés calórico

Se ha observado que vacas lecheras inseminadas durante los meses más calurosos del año presentan una disminución de la fertilidad (Lozano, 2004).

La disminución del porcentaje de concepción durante la temporada de calor puede ser menor entre 20% y 50% en comparación con la temporada de invierno (Cavestany *et al.*, 1985; De Rensis *et al.*, 2002). En México existen zonas donde es muy evidente el efecto del estrés calórico, principalmente en el norte del país, donde se observa una disminución de la fertilidad en los meses cálidos, donde la temperatura corporal alcanza valores entre 39.5 y 41°C (Hansen *et al.*, 2001; Lozano, 2004).

Los efectos del estrés calórico en la reproducción del ganado bovino ha coincidido con el incremento en la producción láctea, lo que se traduce en mayor generación de calor metabólico debido a la producción y al incremento del consumo de materia seca (West, 2003).

Diversos estudios sugieren que el estrés calórico reduce la duración y la intensidad del estro. En verano, las manifestaciones del estro se reducen y la incidencia de anestros y ovulación silenciosa se incrementan. Por lo tanto, hay una reducción en el número de inseminaciones y aumento en la proporción de inseminaciones que no resultan en gestación (Nobel *et al.*, 1997; De Rensis y Scaramuzzi, 2003). Así mismo, se ha observado que la frecuencia de secreción y la amplitud de LH se ve afectada, por lo que el folículo dominante que se

desarrolla presenta menor capacidad de secreción de estradiol, lo que da lugar a una menor expresión de la conducta estral y disminución de la fertilidad (De Rensis y Scaramuzzi, 2003).

La exposición a altas temperaturas durante los días 1 al 7 posteriores al estro, afecta el desarrollo embrionario en vacas superovuladas, disminuyendo la proporción de embriones que llegan a la etapa de blastocisto (Hansen *et al.*, 2001). Bridges *et al.* (2005) observaron que la exposición *in vitro* de células foliculares a temperaturas elevadas, disminuyen la secreción de estradiol y androstenediona en respuesta a gonadotropinas, mientras que la producción de progesterona se incrementó, lo cual sugiere que el proceso de luteinización comienza prematuramente. Asimismo, se presentan índices elevados de muerte embrionaria temprana, al verse comprometida su capacidad para síntesis de Interferón- (Putney *et al.*, 1988).

Otro mecanismo propuesto por el cual el estrés calórico afecta la reproducción, es a través del balance energético negativo (BEN), debido a que ocasiona una reducción de la ingesta de materia seca que prolonga el balance energético negativo (Ronchi *et al.*, 2001). Durante el verano las concentraciones plasmáticas de insulina, IGF-1, y la glucosa disminuyen, debido probablemente al bajo consumo de materia seca (De Rensis y Scaramuzzi, 2003).

Los efectos del estrés calórico en la fertilidad, no sólo se observan durante los meses más calurosos, sino que se presenta un efecto a largo plazo (efecto residual), a pesar de que las vacas ya no están expuestas a altas temperaturas. Se ha sugerido que esto podría ser un efecto de la exposición de los folículos en etapas tempranas de desarrollo al estrés calórico, lo cual disminuye el potencial de los ovocitos para desarrollar embriones sanos (Roth *et al.*, 2001).

2.7 Dinámica folicular

Los bovinos presentan ciclos estrales a intervalos de 19 a 23 días, lo cual depende de las oleadas foliculares. El crecimiento, el desarrollo y la maduración de los folículos ováricos son procesos fundamentales para una alta eficiencia reproductiva. Cada oleada de crecimiento implica la emergencia (reclutamiento), selección y dominancia, seguida de la ovulación o la atresia del folículo dominante (Adams *et al.*, 2008; Forde *et al.*, 2011).

Cada oleada u onda folicular es dependiente de gonadotropinas e inicia con el reclutamiento de un grupo de folículos, debido al incremento de las concentraciones de FSH, proceso que ocurre posterior a la ovulación (día 0), mientras que la segunda oleada se produce entre el día 9 y 10, y en el día 8 o 9 en los ciclos de tres oleadas, y finalmente la tercera oleada emerge en el día 15 o 16 del ciclo (Adams *et al.*, 2008; Forde *et al.*, 2011). Durante el diestro, la progesterona va a ejercer retroalimentación negativa sobre la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), con lo cual va a disminuir la frecuencia de los pulsos de LH, ocasionando la atresia del folículo dominante. La duración del ciclo es de 19 a 20 días cuando se presentan dos oleadas, y de 22 a 23 días cuando se presentan 3 oleadas foliculares, por lo que el inicio de la luteólisis va a verse modificado, comenzando en el día 16 y en el día 19 en los ciclos de dos o tres oleadas, respectivamente (Adams *et al.*, 2008; Forde *et al.*, 2011).

Existen estudios donde se menciona que la fertilidad es mayor en los animales que presentan 3 oleadas en el ciclo previo al servicio, lo cual se atribuye a la ovulación de un folículo con menos días de dominancia. También las vacas que tienen 3 oleadas foliculares en el ciclo estral siguiente a la inseminación son más fértiles que las vacas con 2 oleadas foliculares, lo cual está relacionado con un alargamiento de la fase lútea en las vacas con 3 oleadas foliculares. El alargamiento de la vida media del cuerpo lúteo les daría mayor oportunidad a los embriones que tienen retraso en su desarrollo, ya que tendría más tiempo para

alcanzar el estado óptimo y así producir concentraciones suficientes de Interferón-
(Adams *et al.*, 2008; Forde *et al.*, 2011).

La gonadotropina coriónica humana (hCG), se ha utilizado en los últimos años, para incrementar la fertilidad. El tratamiento con hCG en el día 5 del ciclo ocasiona la inducción de la ovulación del folículo dominante de la primera oleada folicular y la emergencia temprana de la segunda oleada (Badinga *et al.*, 1992). Asimismo, en la segunda oleada folicular de vacas tratadas con (hCG), se presentan un folículo dominante de menor tamaño que va a ejercer menor tiempo dominancia (Sianangama y Rajamahendran, 1992; Díaz, *et al.*, 1998; Nishigai *et al.*, 2001), lo que se atribuye al aumento en las concentraciones plasmáticas de progesterona, ya que la progesterona disminuye la frecuencia de secreción de LH (Díaz *et al.*, 1998). En diferentes trabajos se ha observado que la duración de la segunda oleada es más corta en animales tratados con hCG, y también es más corto el tiempo que ejerce dominancia el folículo dominante de la segunda oleada (Sianangama y Rajamahendran, 1992; Díaz, *et al.*, 1998; Nishigai *et al.*, 2001), con lo cual se ocasiona la emergencia temprana de la tercera oleada folicular, en comparación con las vacas no tratadas.

Por otra parte, es probable que el incremento agudo de las concentraciones de progesterona el día 5 posinseminación ocasione un cambio en la dinámica folicular, ya que disminuye la frecuencia de secreción de la LH, lo cual ocasionaría la atresia del folículo dominante de la primera oleada folicular. En estas condiciones el surgimiento de la segunda oleada folicular sería más temprano, además el folículo dominante tendría un periodo de dominancia menor, lo cual permitiría el surgimiento de la tercera oleada folicular, con lo que se aumentaría la fase lútea de 1 a 2 días y el embrión tendría mayor tiempo para culminar su desarrollo (Díaz *et al.*, 1998).

2.8 Balance Energético Negativo

El reinicio de la función ovárica después del parto se relaciona con el balance energético negativo (BEN) y la producción de leche. La profundidad del BEN

determina el intervalo del parto a la primera ovulación. La longitud y la intensidad del BEN varían de acuerdo con el mérito genético, condición corporal al parto, producción láctea, consumo de alimento y el tipo de dieta (Taylor *et al.*, 2004).

Posterior al parto, el animal debe incrementar hasta 4 veces su consumo de materia seca para cubrir la demanda de nutrientes para la producción láctea y para su mantenimiento, sin embargo, el animal es incapaz de consumir dicho requerimiento de materia seca, por lo que tiene que recurrir a sus reservas corporales, por lo que cae en BEN. El punto más bajo del balance energético (Nadir) es entre los días 10 a 20 después del parto y pueden permanecer en BEN hasta los días 70 u 80, incluso alcanzar el día 100. El proceso por el cual toma los nutrientes de sus reservas corporales se lleva a cabo por medio de la hormona del crecimiento (GH), la cual incrementa su secreción al principio del período posparto; la GH promueve la lipólisis y estimula la gluconeogénesis; la glucosa se dirige hacia la glándula mamaria para utilizarse como energía y como precursor en la síntesis de lactosa (Bell, 1995). Debido a la lipólisis, se incrementa la concentración sanguínea de los ácidos grasos no esterificados (AGNES), los cuales se pueden oxidar en el hígado, en tejidos extra hepáticos, o incorporarse directamente como grasa en la leche (Radcliff *et al.*, 2003; Butler *et al.*, 2004).

Otro factor importante es la leptina, que es una hormona que se produce en las células del tejido graso y se ha propuesto como la señal más importante de los cambios de la condición corporal (Reist *et al.*, 2003). La disminución de la leptina, el aumento los ácidos grasos no esterificados y del β -hidroxibutirato, son señales determinantes para retrasar o suspender la presentación de ciclos estrales (Reist *et al.*, 2000).

La longitud del periodo del parto a la primera ovulación está relacionado con la incapacidad de la hormona del crecimiento para estimular la secreción hepática del factor de crecimiento parecido a la insulina tipo 1 (IGF-1), el cual se relaciona con la función del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Butler, 2000; Taylor *et al.*, 2004).

Se ha observado que durante el balance energético negativo la secreción pulsátil de LH se encuentra alterada, lo cual se ha asociado con las concentraciones bajas de IGF-1; quien en condiciones normales incrementa la respuesta celular a las gonadotropinas en las células de la granulosa (Beam y Butler, 1998; Scaramuzzi *et al.*, 1999). Así mismo, se ha encontrado que en condiciones *in vitro*, la adición de IGF-1 a cultivos de células lúteas de bovino incrementa la síntesis de ADN y la secreción de progesterona (Rivera y Fortune, 2001).

El proceso empieza a cambiar en el momento en que la síntesis de glucosa (como resultado del aumento en el consumo de nutrientes) es superior a las demandas para la producción de leche; por lo que se incrementa su concentración sanguínea; lo que aumenta las concentraciones de insulina y con esto la síntesis de receptores hepáticos para la hormona del crecimiento, en estas condiciones, la GH ya puede estimular la secreción de IGF-I (Lucy *et al.*, 2001; Butler *et al.*, 2003; Radcliff *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2004).

La transición del anestro a la ciclicidad coincide con un mejoramiento de la condición corporal y un incremento de las concentraciones sanguíneas de IGF-1, insulina y leptina, hormonas que presentan una correlación positiva con el incremento de la frecuencia de secreción de LH, con lo cual favorece la maduración folicular, la maduración del ovocito y el desarrollo embrionario (Gutiérrez *et al.*, 1997; Armstrong *et al.*, 2002; Sirisathien *et al.*, 2003; Kadokawa *et al.*, 2006).

La condición corporal no sólo afecta el inicio de la actividad ovárica posparto sino también el porcentaje de concepción. En algunos estudios (Reist *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2009; Meraz *et al.*, 2011) se ha encontrado que las vacas que ganan condición corporal en el periodo de espera voluntario, o bien, posterior al primer servicio, son más fértiles que las vacas que pierden condición corporal.

3 HIPÓTESIS

La aplicación de Progesterona cinco días después de la inseminación incrementa el porcentaje de concepción en vacas lecheras.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Determinar si la aplicación de 500 mg de Progesterona por vía intramuscular cinco días después de la inseminación incrementa el porcentaje de concepción de vacas lecheras en lactación.

4.2 Objetivos Específicos

- Determinar si existe una asociación entre los niveles de progesterona con la fertilidad a partir del día 5 posinseminación.
- Determinar el incremento en los niveles séricos de Progesterona después de su inyección.
- Conocer el comportamiento de la fertilidad de acuerdo con variables como: días en leche, número de parto, tipo de puerperio, condición corporal y tipo de estro.
- Determinar el efecto de la progesterona en los animales que retornaron al estro en un intervalo normal.
- Conocer si existe interacción entre el tratamiento con las variables incluidas en el estudio.

5 MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Localización

El presente trabajo se realizó durante los meses de agosto a diciembre del 2011, en un establo lechero ubicado en la región central de México, en el municipio de Tequixquiac, Estado de México (latitud norte 19° 51' 23", longitud oeste 99° 03' 30"), a una altitud de 2340 msnm. El clima de la región es de tipo C(W0)(W)b(y) que corresponde a templado subhúmedo, con una temperatura anual promedio de 15.5°C y una precipitación pluvial media anual de 861 mm (García, 1981).

5.2 Animales

El establo cuenta con 2000 animales en producción, en un sistema de manejo de tres ordeños al día. La producción por vaca es de 10,000 kg de leche en promedio por lactancia. Se utilizaron 855 vacas en producción, de diferente número de partos y de servicios; alimentadas con una dieta integral similar para todos los animales, según las recomendaciones del NRC.

La revisión reproductiva se realizó en los primeros 10 días posparto para el diagnóstico y tratamiento de las patologías del puerperio. Entre los días 25 y 32 posparto todas las vacas recibieron una dosis luteolítica de PGF2 (Celosil, MSD Salud Animal), la cual se repitió en dos ocasiones más con un intervalo de 14 días entre cada aplicación (Presynch). Las vacas que mostraron estro después de la segunda y tercera inyecciones de PGF2 se sirvieron con semen de toros de fertilidad probada. Las vacas que no mostraron estro después de la tercera inyección de PGF2, se enrolaron en un protocolo de sincronización de la ovulación e inseminación a tiempo fijo (Ovsynch). El protocolo de Ovsynch consta de una aplicación de GnRH (Fertagyl, MSD Salud Anima), 7 días después una aplicación de PGF2, dos días después una segunda dosis de GnRH y la inseminación se realizó entre 14 a 16 horas después.

Las vacas seleccionadas para ser inseminadas fueron las que mostraron signos externos de estro o presentaron aumento en la actividad locomotora medido por

medio de podómetro. Los animales se inseminaron bajo el esquema am-pm/pm-am. En todos los casos se evaluó el tono uterino y la presencia de moco cervical.

El diagnóstico de gestación se realizó mediante palpación rectal entre los días 40 y 50 posinseminación, y se confirmó la gestación a los 90 días después del servicio. Las vacas diagnosticadas no gestantes volvieron a integrarse al programa reproductivo. En estos casos, se registró el tiempo en que regresaron en estro (retorno al estro), clasificándolos como intervalos normales (18 a 24 días), cortos (<17 días), largos (25 a 35 días), dobles (36 a 48 días) y de más de 48 días.

5. 3 Tratamientos

En el día cinco después de la inseminación las vacas se asignaron al azar a dos tratamientos: Progesterona (n= 427), recibieron una inyección intramuscular de 500 mg de progesterona (Progesterona, Pfizer Salud Animal); Testigo (n= 428), no recibieron progesterona. Se seleccionaron seis animales de cada grupo, a los cuales se les tomaron muestras de sangre durante siete días a partir del día 5 posinseminación. Las muestras se recolectaron en tubos al vacío con EDTA sódico y fueron centrifugadas a 1500 g por 20 minutos para la separación del plasma, el cual se conservó en congelación (-20 °C) hasta su análisis. Se utilizó un espectrofotómetro (lector de radiaciones gamma) marca Oakfield. Se determinaron las concentraciones de progesterona por medio de radioinmunoanálisis en fase sólida (*Coat-A-Count Progesterona Diagnostic Product Corporation, USA*) con una sensibilidad de 0.02 ng/ml y un coeficiente de variación intraensayo de 9.38%.

5.4 Análisis estadístico

Los siguientes datos se registraron para cada vaca de manera computarizada por medio del programa AFIFARM (MSD-AFIFARM v 3.04E, Madero Equipos de Ordeño): método de sincronización, días en leche, número de parto, tipo de parto, tipo de puerperio, condición corporal y retorno al estro.

La contribución relativa de cada factor para la probabilidad de gestación se determinó por métodos de regresión logística (López-Gatius *et al.*, 2004, 2006b, Mellado *et al.*, 2012). La gestación se consideró como variable dependiente, mientras que la paridad (primíparas y multíparas), los días en leche, condición corporal, puerperio, tipo de parto, método de sincronización y tratamiento se consideraron variables independientes o explicativas. El análisis estadístico se realizó por medio de regresión logística (software JMP, procedimiento logístico) de acuerdo con el método de Hosmer y Lemeshow. Este método implica cinco pasos: selección preliminar de todas las variables para las asociaciones univariadas; la construcción de un modelo completo utilizando las variables significativas que resultan del análisis univariado; la eliminación gradual de las variables no significativas del modelo completo; la comparación del modelo reducido con el modelo anterior para el ajuste del modelo y los factores de confusión, la evaluación de las interacciones entre las variables y la evaluación del ajuste del modelo mediante estadística de Hosmer-Lemeshow (SAS, 2001, López-Gatius *et al.*, 2004, López-Gatius *et al.*, 2006b)

Las concentraciones de progesterona se compararon mediante análisis de varianza para mediciones repetidas por el procedimiento Mixed (REML) (Walker *et al.*, 2011).

6 RESULTADOS

La media del número de lactación fue de 1.96 ± 0.04 lactancias (media \pm ES, rango: 1 – 7 lactaciones). La media de los días en leche fue de 141.9 ± 3.59 días (rango: 42 – 610 días). La media del número de servicios fue de 2.81 ± 0.08 inseminaciones (rango 1 – 18).

Cuadro 2. Porcentajes de gestación y riesgo relativo de gestación de acuerdo a las variables en el modelo final de regresión logística

Variables	Clasificación	N	% gestación	Riesgo relativo	IC 95%	P
Tratamiento	Progesterona	427	<u>32.08</u>	Referencia		
	Testigo	428	<u>28.73</u>	0.87	0.64-1.18	0.39
Días en leche	< 90	393	<u>35.62</u>	Referencia		
	90 – 150	186	<u>31.18</u>	0.62	0.40-0.95	0.0318
	> 150	276	<u>22.46</u>	0.48	0.32-0.71	0.0003
Número de Partos	Primíparas	400	<u>34.25</u>	1.54	1.09-2.05	0.0104
	Múltiparas	455	<u>27.03</u>	Referencia		
Puerperio*	Fisiológico	229	<u>39.3</u>	Referencia		
	Patológico	85	<u>25.88</u>	0.62	0.64-0.97	0.049
Condición corporal	2.5	274	<u>29.19</u>	Referencia		
	> 2.5	581	<u>30.98</u>	1.24	0.90-1.73	0.18
Tipo de Estro	Natural	448	<u>26.78</u>	Referencia		
	Ovshynch	102	<u>38.23</u>	1.88	1.17-2.99	0.008
	Presynch	305	<u>33.11</u>	1.09	0.76-1.57	0.61
Estro subsiguiente	Progesterona	99	<u>36.36</u>	1.4	0.72-2.75	0.31
	Testigo	88	<u>29.54</u>	Referencia		

*Sólo comprende vacas de primer servicio.

El efecto del tratamiento no fue significativo. No se encontraron interacciones significativas entre el tratamiento con las otras variables ($P > 0.05$). En el cuadro 2 se muestran los porcentajes de concepción y el riesgo relativo de las variables

incluidas en el modelo logístico. Basándose en la razón de probabilidad, el riesgo de gestación fue 0.62 y 0.48 veces menos probable a los 90 – 150 DEL y > 150 DEL respecto a < 90 DEL (P=0.03 y 0.0003 respectivamente). Las vacas primíparas tuvieron 1.54 mayor probabilidad de gestación respecto a las múltíparas. Las vacas de primer servicio con puerperio patológico tuvieron 0.62 menos probabilidad de gestación respecto a los animales con puerperio fisiológico. Respecto al tipo de estro, los animales inseminados con el uso del protocolo de sincronización Ovsynch, mostraron 1.88 mayor probabilidad de gestación respecto a los animales inseminados a la presentación del estro natural.

El porcentaje de concepción de vacas que retornaron al estro en un intervalo normal (18 a 24 días) fue de 36.3 y 29.5% (P=0.31), para el grupo tratado con progesterona y testigo, respectivamente.

Las vacas tratadas mostraron mayores concentraciones de progesterona (P<0.05) en las siguientes 48 horas postratamiento (Figura 1).

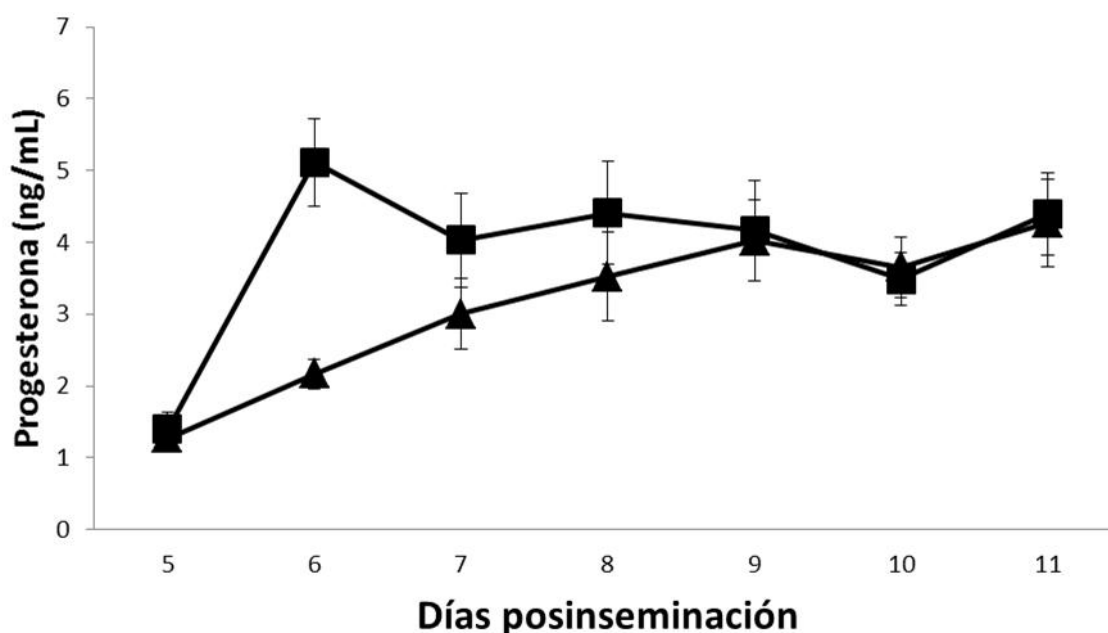


Figura 1. Promedio (\pm EE) de las concentraciones séricas de progesterona de vacas tratadas con 500 mg de progesterona () por vía intramuscular cinco días después de la inseminación, y testigos ().

En el cuadro 3 se muestran los días promedio de retorno al estro (están incluidas las vacas de ambos grupos). La proporción de vacas con intervalo normal (18 a 24 días), fue igual entre los tratamientos [Progesterona= 21.2 ± 1.8 y Testigo=21.9 ± 1.6 días].

Cuadro 3. Intervalos entre servicios* (cortos, normales, largos, dobles y más de 48 días)

Ciclos	Porcentaje	N	Gestantes	Porcentaje de Concepción
Cortos (<17 días)	10 %	40	4	10%
Normales (18-24 días)	47 %	187	62	33%
Largos 25-35 días)	29 %	115	27	23%
Dobles (36-48 días)	12 %	49	7	14%
> 48 días	2 %	7	0	0%
	100%	398	100	p = 0.03

*Incluyen a todas las vacas de ambos grupos.

7 DISCUSIÓN

El incremento temporal de las concentraciones séricas de progesterona cinco días después de la inseminación no afectó el porcentaje de concepción. En el presente estudio se propuso que un incremento temporal de los niveles séricos de progesterona en el diestro temprano podría favorecer el porcentaje de concepción; esta hipótesis se sustentó en las observaciones de Mann *et al.* (2006), quienes encontraron que la suplementación con progesterona del día 5 al 9 posinseminación favoreció el desarrollo del embrión y la secreción de Interferón- γ , mientras que el mismo tratamiento, entre el día 12 y el 16, no tuvo efecto. El fracaso del tratamiento propuesto en el presente trabajo probablemente obedece a que la duración del incremento de las concentraciones de progesterona fue menor de tres días, mientras que en el estudio de Mann *et al.* (2006) se conservaron altas en forma constante del día 5 al día 9 posinseminación. En contraste con nuestro trabajo, las observaciones de Mann *et al.* (2006) se hicieron en vacas que no estaban en lactación, lo cual pudo influir en las concentraciones de progesterona alcanzadas y en el desarrollo embrionario. Cabe señalar, que las vacas en lactación están afectadas por diversos factores que determinan la fertilidad, entre ellos el balance energético negativo, condición metabólica que afecta negativamente la fertilidad (Reist *et al.*, 2003, Whates *et al.*, 2007).

Los resultados del presente estudio difieren de los obtenidos en el trabajo de Ramírez (2013), en el cual el mismo tratamiento sí mejoró el porcentaje de concepción en vacas de primer servicio o con menos de 100 días en leche, pero no en vacas de segundo servicio o de más de 100 días en leche. Son diferentes, también, a los resultados observados por Meraz *et al.* (2011), en los cuales el mismo tratamiento mejoró el porcentaje de concepción sólo en vacas que perdieron condición corporal después de la inseminación.

La diferencia en los resultados con respecto al estudio de Ramírez *et al.*, (2012), puede estar relacionada con la fertilidad asociada con los días en leche en que se practica el servicio; en el presente trabajo los porcentajes de concepción más altos

los tuvieron las vacas que estaban en sus primeros 90 días en leche mientras que en el estudio de Ramírez *et al.*, (2012) se observó algo opuesto, las vacas menos fértiles fueron las que tuvieron menos de 100 días en leche. Esta condición particular de los hatos estudiados por Ramírez *et al.*, (2012) es interesante ya que se ha corroborado en otros estudios hechos en esos mismos hatos (Tixi *et al.*, 2009a, 2009b), donde el porcentaje de concepción aumenta significativamente después del segundo servicio. Así, es posible que el efecto de la progesterona sólo sería favorable cuando hay un problema de subfertilidad, en este caso asociado con los días posparto.

En el presente trabajo la condición corporal al momento del servicio no afectó el porcentaje de concepción. Así mismo, los cambios registrados entre el día de la inseminación y el día 30 posinseminación sólo fueron evidentes en 61 vacas de ambos grupos, por lo cual no se presenta en el texto la comparación entre los grupos. Sin embargo, no se observó diferencia estadística debida al tratamiento aunque numéricamente las vacas tratadas con progesterona tuvieron casi 10 puntos porcentuales más que las vacas testigo [Progesterona 35.7% (10/28) y grupo Testigo 27.3% (9/33)]; es posible que debido al tamaño de la muestra no se pudo ver una diferencia estadística. Lo anterior puede explicar, también, la discrepancia del presente estudio con respecto al trabajo de Meraz *et al.* (2011), en el cual el mismo tratamiento mejoró el porcentaje de concepción sólo en vacas que perdieron condición corporal después de la inseminación. En otros estudios se ha visto la influencia de la condición corporal en la respuesta a los tratamientos para mejorar la fertilidad; así, el tratamiento con hCG en el día cinco después de la inseminación incrementó el porcentaje de concepción sólo en vacas de primer servicio que perdieron condición corporal en los siguientes 30 días posinseminación mientras que en las que mantuvieron o ganaron condición corporal no hubo ningún efecto (Santos *et al.*, 2001; Urzúa *et al.*, 2009).

La variación en la respuesta a los tratamientos para mejorar el porcentaje de concepción indica, primero, la naturaleza diversa de las causas de la falla en la concepción en los hatos lecheros, por lo cual un incremento temporal de los

niveles séricos de progesterona puede tener un efecto marginal en el desarrollo embrionario cuando hay otros factores negativos más poderosos que afectan la sobrevivencia embrionaria; y segundo, que no hay un tratamiento eficaz para todas las condiciones de producción.

Los resultados del presente estudio contrastan, igualmente, con los obtenidos por Urzúa *et al.* (2009), quienes indujeron la formación de un cuerpo lúteo accesorio en el día cinco después de la inseminación mediante la inyección hCG, para aumentar las concentraciones séricas de progesterona. Es probable que la diferencia entre estudios radique en la duración del aumento de las concentraciones sanguíneas de progesterona. Así, mientras en el presente trabajo el incremento fue de corta duración, en el estudio de Urzúa *et al.* (2009) la vacas tratadas con hCG mantuvieron concentraciones altas de progesterona entre los días 6 y 16 posinseminación, lo cual pudo influir más consistentemente en el desarrollo embrionario. Esta interpretación coincide con los resultados de Larson *et al.* (2007) quienes observaron que el incremento gradual de las concentraciones séricas de progesterona entre los días 3.5 y 10 posinseminación aumentó el porcentaje de concepción en vacas en lactación, mientras que en el presente estudio, el incremento agudo de progesterona pudo no haber tenido un efecto favorable en la sobrevivencia embrionaria, debido a que el día en que se administró la progesterona, los embriones ya se hubieran visto afectados por ciertos efectos negativos para su desarrollo (Butler, 1998; Lucy, 2001; Hernández y Gutiérrez, 2007; Diskin y Morris, 2008).

El efecto del tratamiento en la dinámica folicular no se pudo medir en el presente trabajo. No obstante, el incremento agudo de las concentraciones séricas de progesterona ocasiona atresia del folículo dominante y el surgimiento de una nueva oleada folicular (Ahman *et al.*, 1997; Díaz *et al.*, 1998). Así, la inyección de progesterona podría inducir la atresia del folículo dominante en el día cinco, el surgimiento temprano de la segunda oleada folicular y un ciclo estral con tres oleadas foliculares, presentándose una fase lútea más larga, lo cual puede favorecer la sobrevivencia embrionaria (Bergfeld *et al.*, 1996; García *et al.*, 2004).

En el presente trabajo, los días promedio de retorno al estro en las vacas que tuvieron un intervalo entre servicios normal (18 a 24 días) fue similar en las vacas tratadas con progesterona y en las testigo (21.21 ± 1.7 vs. 21.93 ± 1.6 días; grupos progesterona y testigo, respectivamente), lo cual permite especular que si hubo un efecto en la dinámica folicular, este no se reflejó en la duración de la fase lútea y del ciclo estral. Para lo cual sería conveniente para estudios posteriores, realizar el seguimiento de las oleadas foliculares mediante el uso de ecografía, evaluando el tamaño de los folículos secundarios y del cuerpo lúteo funcional, así como la medición de los niveles de estradiol para corroborar el recambio folicular.

Otro efecto del supuesto cambio de la dinámica folicular después de la inyección de progesterona sería que las vacas que no concibieran en el ciclo experimental, tuvieran mayor probabilidad de gestación en el ciclo subsiguiente. Sin embargo, el porcentaje de concepción en el servicio practicado en el retorno al estro fue similar entre los grupos, lo cual contrasta con lo observado por Flores (2010), quien observó que las vacas tratadas con progesterona presentaron un porcentaje de concepción mayor en el ciclo subsiguiente, en comparación con el grupo testigo.

La distribución de los intervalos entre servicios observados en las vacas no gestantes que retornaron en estro fue similar entre el grupo tratado con progesterona y grupo testigo (datos no mostrados). Los intervalos entre servicios en el presente estudio coinciden con lo encontrado por Tixi *et al.* (2009a), quienes evaluaron la proporción de los intervalos entre servicios en más de 5000 vacas. En el presente estudio se encontró que la proporción de intervalos normales es muy baja (47%), mientras que la proporción de los ciclos largos, dobles y más de 48 días fue alta (29%, 12% y 1.7% respectivamente), esto obedece a problemas de baja eficiencia y precisión en la detección de estros. Un aspecto interesante es la variación en el porcentaje de concepción obtenido en la inseminación realizada cuando la vaca tiene diferentes intervalos previos al servicio. Así, las vacas con mayor porcentaje de concepción son las que fueron inseminadas después de 18 a 24 días a partir del estro precedente. Las vacas con menor porcentaje de concepción son las que tienen intervalos cortos (<17 días) y dobles (36 a 48 días).

La causa de la disminución de la fertilidad puede deberse a la inseminación de vacas que no se encuentran en estro, lo cual obedece al desconocimiento de los signos característicos de esta etapa por parte del personal que labora en la explotación; así mismo, se pueden considerar otros factores entre los que se encuentran persistencia del cuerpo lúteo y muerte embrionaria (López-Gatius *et al.*, 2002; Starbuck *et al.*, 2004).

Los días en leche afectaron el porcentaje de concepción; de esta forma, las vacas más fértiles fueron las que se inseminaron en los primeros 90 días posparto. Este resultado es relevante, ya que contrasta con lo observado por Tixi *et al.* (2009b) quienes encontraron que el porcentaje de concepción fue mayor conforme la vaca se aleja del parto; así, en el estudio citado, las vacas más fértiles fueron las que se inseminaron en el tercero y cuarto servicios. Los resultados del presente trabajo contrastan, también, con lo observado en vacas inseminadas con diferentes periodos voluntarios de espera. En hatos lecheros el primer servicio es más fértil cuando se realiza después del día 100 posparto, debido a que los animales salen del balance energético negativo y se alejan de las patologías del puerperio (Sheldon *et al.*, 2006; Plöntzke *et al.*, 2010). Así mismo, el porcentaje de concepción en los servicios realizados después de 150 días en leche es 13 puntos porcentuales menor que el obtenido en los primeros 90 días. Este resultado puede obedecer a que en el grupo de vacas inseminadas después de 150 días en leche, están concentradas las vacas infértiles (vacas repetidoras). Así, este grupo de vacas ya ha sido seleccionado por padecer problemas de diferente naturaleza que provocan falla en la fertilización y muerte embrionaria (Fourichon *et al.*, 2000; Walsh *et al.*, 2011). El protocolo de sincronización Ovsynch presentó mayor porcentaje de concepción, respecto al estro fisiológico. Los protocolos de inseminación a tiempo fijo pueden mostrar ventajas en la tasa de preñez y en el porcentaje de concepción cuando se aplican en hatos con baja eficiencia en la detección de calores (Kasimanickam *et al.*, 2005; Gumen *et al.*, 2012).

El porcentaje de concepción fue mayor en las vacas de primer parto que en las múltiparas. Las vacas de primer parto padecen un BEN más profundo que las

multíparas, por lo tanto estarían más expuestas a los efectos negativos del BEN en la fertilidad (Villa-Godoy *et al.*, 1988; Berry *et al.*, 2006); sin embargo, la fertilidad en este grupo de vacas fue mejor que en las multíparas.

El puerperio patológico no afectó el porcentaje de concepción global, pero sí disminuyó el porcentaje de concepción en las vacas de primer servicio. Esta observación coincide con otros estudios (LeBlanc, 2008; Sheldon *et al.*, 2008, 2009a), en los cuales patologías como la retención placentaria o infecciones uterinas disminuyen el porcentaje de concepción. Cabe señalar que en el presente estudio y los trabajos citados, las vacas fueron inseminadas sin signos de patologías uterinas, lo que hace suponer que el porcentaje de concepción disminuyó por casos de endometritis subclínica o por afectación de la función ovárica por endotoxinas generadas durante el proceso infeccioso del útero (LeBlanc *et al.*, 2002; Sheldon *et al.*, 2009b).

8 CONCLUSIONES

La aplicación de progesterona el día 5 después de la inseminación incrementa los niveles sanguíneos de esta hormona durante 48 horas.

No existe interacción entre el tratamiento de progesterona 5 días posinseminación con el número de partos, número de servicios, tipo de puerperio, condición corporal y días en leche.

Bajo las condiciones del presente estudio, la aplicación intramuscular de 500 mg progesterona el día cinco después de la inseminación, no incrementa el porcentaje de concepción en vacas lecheras.

Para estudios futuros es necesario incluir el uso de la ecografía para determinar el efecto de la progesterona sobre la dinámica folicular. Sería interesante evaluar el tratamiento en vacas inseminadas con tendencia a perder condición corporal y durante las diferentes épocas del año.

9 REFERENCIAS

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

Ahman N, Townsend EC, Dailey RA, Inskeep 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.

Armstrong DG, Gong JG, Gardner JO, Baxter G, Hogg CO, Webb R. Steroidogenesis in bovine granulosa cells: the effect of short-term changes in dietary intake. *Reproduction.* 2002; 123: 371-378.

Ayalon N. A review of embryonic mortality in cattle. *J. Reprod. Fertil.* 1978; 54: 483-493.

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.

Beam SW, Butler WR. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J. Dairy. Sci.* 1998; 81:121–131.

Bell AW. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J Anim. Sci.* 1995; 73: 2804-2819.

Bergfeld EGM, Kojima FN, Cupp AS, Wehrman ME, Peters KE, Mariscal V, Sanchez T, Kinder JE. Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of LH pulses and secretion of 17 β -estradiol in bovine females. *Biol. Reprod.* 1996; 54:546.

Berry DP, Veerkamp RF, Dillon P. Phenotypic profiles for body weight, body condition score, energy intake, and energy balance across different parities and concentrate feeding levels. *Livestock Science.* 2006; 104: 1-12.

Block SS, Butler WR, Ehrhardt RA, Bell AW, Van Amburgh ME, Boisclair YR. Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J. Endocrinol.* 2001; 171: 339-348.

Bridges PJ, Brusie MA, Fortune JE. Elevated temperatura (heat stress) in vitro reduces androstenedione and estradiol and increases progesterona secreción by follicular cells from bovine dominant follicles. *Domestics Animal Endocrinology.* 2005; 29: 508-522.

Butler WR, Smith RD. Interrelationship between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy. Sci.* 1989;72: 767-783.

Butler WR, Calaman JJ, Beam SW. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *Journal of Animal Science.* 1996; 74: 858-865.

Butler WR. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy. Sci.* 1998; 81: 2533-2539.

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

Butler ST, Marr AL, Pelton SH, Radcliff RP, Lucy MC, Butler WR. Insulin restores GH responsiveness during lactation-inducing negative energy balance in dairy cattle: effects of expression of IGF-I and GH receptor 1A. *J. Endocrinol* 2003; 176: 205-217.

Butler ST, Pelton SH, Butler WR. Insulin increases 17 β -estradiol production by the dominant follicle of the first postpartum follicle wave in dairy cows. *Reproduction* 2004; 127: 537-545.

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.

Cerri, R. L., Chebel, R. C., Rivera, F., Narciso, C. D., Oliveira, R. A., Thatcher, W. W., and Santos, J. E. (2011). Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: I. Ovarian and embryonic responses. *J. Dairy Sci.* **94**, 3342–3351.

Cavestany D, El-Whishy AB, Foot RH. Effect of season and high environmental temperature on fertility of Holstein cattle. *J Dairy Sci* 1985;68:1471–8.

Chagas e Silva J, Lopes da Costa L, Robalo Silva J. Plasma progesterone profiles and affecting embryo fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle. *Theriogenology.* 2002; 58: 51-59.

Chenault JR, Boucher JF, Dame KJ, Meyer JA, Wood-Follis SL. Intravaginal progesterone insert to synchronize return to estrus of previously inseminated dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2003; 86: 2039-2049.

Darwash AO, Lamming GE, Royal MD. A protocol for initiating oestrus and ovulation early postpartum in dairy cows. *Anim. Sci.* 2001; 72: 539-546.

Dawson FLM. Progesterone in functional infertility of cattle. *Vet. Rec.* 1954; 66: 324-326.

De Rensis F, Marconi P, Capelli T, Gatti F, Facciolongo F, Franzini S, et al. Fertility in postpartum dairy cows in winter or summer following estrous synchronization and fixed time A.I. after the induction of an LH surge with Gonadotropin releasing hormone (GnRH) or human chorionic gonadotropin (hCG). *Theriogenology* 2002;58:1675–87.

De Rensis F, Scaramuzzi RJ. Heat stress and seasonal effects on reproduction in dairy cow: A review. *Theriogenology.* 2003; 60: 1139-1151.

Díaz T, Schmitt 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.

Dillon P, Berry DP, Evans RD, Buckley F, Horan B. Consequences of genetic selection or increased milk production in European seasonal pasture based of milk production. *Livest. Sci.* 2006; 99: 141-158.

Diskin MG, Sreenen JM. Progesterone and embryo survival in the cow. In: JM Sreenan and MG Diskin, (eds), *Embryo Mortality in Farm Animals*. Martinus Nijhoff, Dordrech. 1986, pp 142-158.

Diskin MG, Morris DG. Embryonic and Early Foetal Losses in Cattle and Other Ruminants. *Reprod. Dom. Anim.* 2008; 43:260–267.

Dransfield MBG, Nebel RL, Pearson RE, Warnick LD. Timing of insemination for Dairy Cows Identified in Estrus by a Radiometric Estrus Detection System. *J. Dairy Sci.* 1998; 81: 1874-1882.

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.

Flores OJ. 2010. Porcentaje de concepción en vacas lecheras tratadas con progesterona en el día 5 después de la inseminación. Tesis de Licenciatura. México, DF. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.

Forde N, Beltman ME, Lonergan P, Diskin M, Roche JF, Crowe MA. Oestrus cycles in *Bos Taurus* cattle. *Animal Reproduction Science* 2011; 124: 163-169.

Fourichon C, Seegers H, Malher X. Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. *Theriogenology*. 2000; 53; 1729-1759.

García FEO, Cordero MJL, Hizarza AE, Peralta OJ, Ortega CME, Cárdenas M, Gutiérrez CG, Sánchez TEMT. Induction of a new follicular wave in holstein heifers synchronized with norgestomet. *Animal Reproduction Science* 2004; 80:47–57.

García, E. 1981. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 246 p.

Garcia AM. 2013. Determinación de la prevalencia de endometritis subclínica y su impacto reproductivo en vacas lecheras en estabulación del Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca, México. Resultados parciales. Tesis de Licenciatura. Bucaramanga, Santander, Colombia. Universidad Cooperativa de Colombia.

Garret JE, Geisert RD, Zavy MT, Morgan GL. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J. Reprod. Fert.* 1988. 84: 437-446.

Garverick HA, Zollers WG, Smith MF. Mechanism associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Animal Reproduction Science*. 1992; 28: 111-124.

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.

Ghanem ME, Nakao T, Nishibori M. Deficiency of uridine monophosphate synthase (DUMPS) and X-chromosome deletion in fetal mummification in cattle. *Animal Reproduction Science*. 2006; 91: 45-54.

Grealy M, Diskin MG, Sreenan JM. Protein content of cattle oocytes and embryos from the two-cell to the elongated blastocyst stage at day 16. *J. Reprod. Fertil.* 1996; 107: 229-233.

Gumen A, Keskin A, Yilmazbas-Mecitoglu G, Karakaya E. Effect of presynchronization strategy before Ovsynch on fertility at first service in lactating dairy cows. *Theriogenology*. 2012; 78: 1830-1838.

Gutiérrez CG, Oldham J, Bramley TA, Gong JG, Campbell BK, Webb R. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. *J. Anim. Sci.* 1997; 75: 1876-1884.

Hansen PJ, Drost M, Rivera RM, Paula-Lopes FF, Al-Katanani YM, Krininger III CE, Chase CC Jr. Adverse impact of the heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. *Theriogenology.* 2001; 55: 91-103.

Henrick JB. Clinical observation of progesterone therapy in repeat breeding heifers. *Vet. Med.* 1953; 48; 489-490.

Hernández CJ, Zarco QL. Función del cuerpo lúteo y muerte embrionaria en rumiantes. *Ciencia Veterinaria.* 1998; 8: 1-28.

Hernández CJ, Gutiérrez CG. Factores asociados con la infertilidad en la vaca lechera en sistemas intensivos de producción. *Ciencia Veterinaria* 2007; 10:71-91.

Hernández CJ, Morales RS. Falla en la concepción en el ganado lechero: Evaluación de terapias hormonales. *Rev. Vet. Mex.* 2001; 32:279-287.

Hunter RHF. Fertility in cattle: basic reason why late insemination must be avoided. *Anim. Breed. Abstr.* 1985; 53: 83-87.

Inskeep EK, Dailey RA. Embryonic death in cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food and Animal Practice.* 2005;21: 437-461.

Johnson KR, Ross RH, Fourt DL. Effect of progesterone administration on reproductive efficiency. *J. Anim. Sci.* 1958;17: 386-390.

Kadokawa H, Blache D. Plasma Leptin Concentrations with Luteinizing Hormone Secretion in Early Postpartum Holstein Cows. *Journal of Dairy Science.* 2006. 89: 3020-3027.

Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 2004; 62: 9–23.

Kasimanickam R, Cornwell JM, Nebel RL. Fertility following fixed-time AI or insemination at observed estrus in Ovsynch and Heatsynch programs in lactating dairy cows. *Theriogenology.* 2005; 63(9): 2550-2559.

King WA. Embryo-mediated pregnancy failure in cattle. *Can. Vet. J.* 1991; 32: 99-103.

Kim JW, Rhoads RP, Block SS, Overton TR, Frank SJ, Boisclair YR. Dairy cows experience selective reduction of the hepatic growth hormone receptor during the periparturient period. *J. Endocrinol.* 2004; 181: 281-290.

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, Currie WB. Progesterone supplementation increases pregnancy rates in lactating dairy cattle. *J. Reprod. Fertil. Abst.* 1995; Series:15:63.

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

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

LeBlanc, SJ, Duffield T, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis, and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 2002; 85: 2223–36.

LeBlanc SJ. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. *Vet. J.* 2008; 176: 102-114.

Leroy JLMR, Opsomer G, Van Soom A, Goovaerts IGF, Bols PEJ. Reduced fertility in high-yielding Dairy Cows: Are the oocyte and embryo in danger? Part I. *Reprod. Dom. Anim.* 2008; 43:612-622.

López-Gatius F., Santolaria P., Janiz J., Ruttlant J., Lopez-Bejar M. Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. *Theriogenology.* 2002; 57: 1251–1261.

López-Gatius F, Murugavel K, Santolaria P, Lopez-Bejar M, Yaniz JL. Pregnancy Rate after Timed Artificial Insemination in Early Post-partum Dairy Cows after Ovshynch or Specific Synchronization Protocols. *J. Vet. Med.* 2004; 51: 33-38.

López-Gatius F, García-Ispuerto I, Santolaria P, Yániz J, Nogareda C, López-Béjar M. Screening for high fertility in high-producing dairy cows. *Theriogenology*. 2006a; 65: 1678-1689.

López-Gatius F., Santolaria P., Martino A., Delétang F., De Rensis F. The effects of GnRH treatment at the time of AI and 12 days later on reproductive performance of high producing dairy cows during the warm season in northeastern Spain. *Theriogenology*. 2006b; 65: 820-830.

Lozano DR. 2004. Efecto del estrés calórico sobre el desarrollo folicular, fertilidad, el desarrollo y la calidad del embrión y la función lútea en vacas Holstein. Tesis de doctorado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.

Lucy MC, Staples CR, Thatcher WW, Erickson PS, Cleale RM, Firkins JL. Influence of diet composition, dry-matter intake, milk production and energy balance on time of post-partum ovulation and fertility in dairy cows. *Anim. Prod.* 1992; 54: 323-331.

Lucy MC. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end? *J. Dairy Sci.* 2001; 84:1277-1293.

Lucy MC, Jaing H, Kobayashi Y. Changes in the somatotropin axis associated with the initiation of lactation. *J Dairy Sci* 2001; 84: 113-119.

Lucy MC. Fertility in high-producing dairy cows: reasons for decline and corrective strategies for sustainable improvement. *Soc. Reprod. Fertil. Suppl.* 2007; 64: 237-54.

Macmillan KL, Taufu VK, Day AM, Peterson AJ. Effects of supplemental progesterone on pregnancy rates in cattle. *J. Reprod. Fertil. (Suppl)* 1991; 43: 304 abstr.

Mann GE, Merson P, Fray MD, Lamming GE. Conception rate following progesterone supplementation at second insemination in dairy cows. *J. Reprod. Fert. Abst.* 1998; series 22.

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

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

Mann GE. Pregnancy rates during experimentation in dairy cows. *The Veterinary Journal*. 2001; 161: 301-305.

Mann GE, Bleach EC, Starbuck GR, Fray MD. Relationship between preovulatory follicle growth and postovulatory luteal function in the cow. *J. Anim. Sci. Suppl*. 2001; 79 (135).

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, Fray MD. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-t production in cow. *The Vet. J*. 2006; 171:500-503.

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.

Macmillan KL, Taufu VK, Day AM, Peterson AJ. Effects of supplemental progesterone on pregnancy rates in cattle. *J. Reprod. Fertil (Suppl)* 1991; 43: 304 abstr.

Mellado M., Zuñiga A., Veliz FG., De Santiago A., García JE. Factors influencing pregnancy per artificial insemination in repeat-breeder cows induced to ovulate with a CIDR-based protocol. *Anim. Reprod. Sci*. 2012; 134: 105-111.

Meraz TD, 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 5 post servicio. *Memorias del XXXV Congreso Nacional de Buiatría 2011*. León, Guanajuato. México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos. pp 271.

Miglior F, Muir BL, Van Doormaal BJ. Selection índices in Holstein cattle of various countries. *J. Dairy Sci*. 2005; 88: 1255-1263.

Moreira F, Paula-Lopes FF, Hansen PJ, Badinga L, Thatcher WW. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor-1 on development of in vitro derived bovine embryos. *Theriogenology*. 2002; 57: 895-907.

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.

Nobel RL, Jobst SM, Dransfield MBG, Pandolfi SM, Balley TL. Use of radio frequency data communication system, HeatWatch, to describe behavioural estrus in dairy cattle. *J Dairy Sci* 1997; 179 (abstract).

Okuda K, Miyamoto Y, Skarzynski DJ. Regulation of endometrial prostaglandin F(2alpha) synthesis during luteolysis and early pregnancy in cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2002; 23: 255-264.

Parr RA, Davis IF, Miles MA, Squires TJ. Liver blood flow and metabolic clearance rate of progesterone in sheep. *Res. Vet. Sci.* 1993; 55: 311-316.

Peter AT, Bosu WK, Liptrap RM, Cummings E. Temporal changes in serum prostaglandin F₂ and oxytocin in dairy cows with short luteal phases after the first postpartum ovulation. *Theriogenology.* 1989; 32: 277-284.

Plöntzke J, Madoz LV, De la Sota RL, Drillich M, Heuwieser W. Subclinical endometritis and its impact in reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. *Anim. Reprod. Sci.* 2010; 122: 52-57.

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

Pryce JE, Royal MD, Garnsworthy PC, Mao IL. Fertility in the high-producing dairy cow. *Livest. Prod. Sci.* 2004; 86: 125-135.

Putney DJ, Drost M, Thatcher WW. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatura between days 1 to 7 post insemination. *Theriogenology.* 1988; 30: 195-209.

Radcliff RP, McCormack BL, Crooker BA, Lucy MC. Plasma hormones and expression of growth hormone receptor and insulin-like growth factor-I mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 2003; 86: 3920-3926.

Ramírez LM. 2013. Efecto de un tratamiento con progesterona en el día cinco posinseminación sobre el porcentaje de concepción de vacas lecheras de primero y segundo servicios. Tesis de Maestría. México, DF. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.

Reist M, Koller IA, Busato A, Ktipfer U, Blum JW. First ovulation and ketone body status in the early postpartum period of dairy cows. *Theriogenology.* 2000; 64:665-701.

Reist M, Erdin DK, von Euw D, Tschümperlin KM. Postpartum reproductive function: association with energy, metabolic and endocrine status in high yielding dairy cows. *Theriogenology*. 2003; 59: 1707-1723.

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

Rivera GM, Fortune JE. Development of codominant follicles in cattle is associated with a follicle-stimulating hormonedependent insulin-like growth factor binding protein-4 protease. *Biol. Reprod.* 2001; 65:112-118.

Robinson N A, Leslie KE, Walton JS. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 1989; 72, 202–207.

Rodríguez Castañeda OA, Díaz Bolaños R, Ortiz González O, Gutiérrez CG, Montaldo HH, García Ortiz C, Hernández Cerón J. Porcentaje de concepción al primer servicio en vacas Holstein tratadas con hormona bovina del crecimiento en la inseminación. *Rev. Vet. Mex.* 2009; 40:1-7.

Ronchi B, Stradaioli G, Verini Supplizi A, Bernabuci U, Lacetera N, Accorsi PA, et al. Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol-17beta, LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. *Livestock Prod. Sci.* 2001; 68: 231–41.

Roque CR, Hernández CJ. Porcentaje de Concepción de vacas lecheras repetidoras tratadas con Progesterona o Norgestomet en el diestro temprano. *Memorias del XXXIII Congreso Nacional de Buiatría 2009*. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos. pp 287.

Roth Z, Mewidan R, Shaham-Albalancy A, Braw-Tal R, Wolfenson D. Delayed effect of heat stress on steroid production in médium-size and preovulatory bovine follicles. *Reproduction*. 2001; 121: 745-751.

Sangsritavong 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.

Santos JEP, Rutigliano HM, Sá Filho HF. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2009; 110: 207-221.

Sartori R, Sartor-Bergfelt R, Mertens SA, Guenther JN, Parrish JJ, Wiltbank MC. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J. Dairy. Sci.* 2002; 85: 2803-2812.

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.

SAS. Technical report: release 8.2. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.; 2001.

Scaramuzzi RJ, Murray JF, Downing JA, Campbell BK. The effects of exogenous growth hormone on follicular steroid secretion and ovulation rate in sheep. *Domest. Anim. Endocrinol.* 1999; 17:269-277.

Schmutz SM, Moker JS, Pawlyshyn V, Haugen B, Clark EG. Fertility effects of the 14;20 Robertsonian translocation in cattle. *Theriogenology.* 1997; 4: 815-823.

Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology.* 2006; 65: 1516-1530.

Sheldon IM, Williams EJ, Miller NA, Nash DM. Uterine diseases in cattle after parturition. *The Veterinary Journal.* 2008; 176: 115-121.

Sheldon IM, Cronin J, Goetze L, Donofrio G, Schuberth HJ. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol. Reprod.* 2009a; 81: 1025-1032.

Sheldon IM, Price SB, Cronin J, Gilbert RO, Gadsby JE. Mechanism of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. *Reprod. Domest. Anim.* 2009b; 44 (suppl. 3): 1-9.

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 human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. *Theriogenology.* 1992; 38:85-96.

Sirisathien S, Hernandez-Fonseca HJ, Brackett BG. Influences of epidermal growth factor and insulin-like growth factor-1 on bovine blastocyst development in vitro. *Anim. Reprod. Sci.* 2003; 77: 21-32.

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 TE, Burghardt RC, Johnson GA, Bazer FW. Conceptus signal for establishment and maintenance of pregnancy. *Animal Reproduction Science.* 2004; 82-83: 537-550.

Sreenen JM, Diskin MG. Early embryonic mortality in the cow: its relationship with progesterone concentration. *Vet. Rec.* 1983; 112: 517-521.

Sreenan JM, Diskin MG, Morris DG. Embryo survival rate in dairy cattle: A mayor limitation to the achievement of high fertility. *Proceeding of the fertility in the high-producing dairy cow.* 2001; BSAS Occasional Publication: 93-104.

Starbuck MJ., Dailey RA., Inskeep K. Factors affecting retention of early pregnancy in dairy cattle. *Animal Reproduction Science.* 2004; 84: 27–39.

Starbuck ML, 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 JS, Mee MO. Pregnancy rate of Holstein cows after post – insemination treatment with a progesterone-releasing intra – vaginal device. *J. Dairy Sci.* 1991; 74: 3849-3856.

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.

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.

Susuki C, Yoshioka K, Iwamura S, Hirose H. Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the proestrus phase I Holstein heifers. *Domestic Animal Endocrinology.* 2001; 20: 267-278.

Taylor VJ, Cheng Z, Pushpakumara PG, Beever DE, Wathes DC. Relationships between the plasma concentrations of insulin-like growth factor-I in dairy cows and their fertility and milk yield. *Vet Rec.* 2004; 155: 583-588.

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.

Thatcher WW, Moreira F, Santos JEP, Mattos RC, Lopes FL, Pancarci SM, Risco CA. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology.* 2001; 55: 75-90.

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.

Tixi C, Villa-Godoy A, García C, Hernández CJ. Intervalo entre servicios y porcentaje de concepción en vacas lecheras en estabulación. *Memorias del XXXIII Congreso Nacional de Buiatría 2009a.* Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos. pp 283.

Tixi C, Villa-Godoy A, García C, Montaldo H, Posadas E, Hernández-Cerón J. 2009. Factores que afectan el porcentaje de vacas gestantes en el día 90 posparto. *Memorias del XXXIII Congreso Nacional de Buiatría 2009b.* Tuxtla Gutiérrez Chiapas. México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos. pp 277.

Urzúa E, Gutiérrez CG, Garza A, Corona C, Mapes G, Hernández 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.

Van Cleeff J, Drost M, Thatcher WW. Effect of post insemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous response of dairy heifers. *Theriogenology* 1991; 35:795-807.

Vanroose G, Kruif de K, Van Soom V. Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. *Animal Reproduction Science.* 2000; 60-61: 131-143.

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, 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.

Viuf D, Hendriksen JMP, vos LAMP, Dieleman SJ, Bibby BM, Greve T, Hyttel P, Thomsen PD. Chromosomal abnormalities and development kinetics in *in vivo*-developed cattle embryos at days 2 to 5 after ovulation. *Biology o Reproduction.* 2001; 65: 204-208.

Walsh SW, Williams EJ, Evans ACO. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2011; 123: 127-138.

Walton JS, Halbert GW, Robinson NA, Leslie KE. Effects of progesterone and human chorionic gonadotrophin administration five days post-insemination on plasma and milk concentration of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. *Can. J. Vet. Sci.* 1990; 54: 305-308.

Weems CW, Weems YS, Randel RD. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *The Veterinary Journal.* 2006; 171: 206-228.

West JW. Effects of heat stress on production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2003; 86: 2131-2144.

Whates DC, Fenwick M, Cheng Z, Bourne N. Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cows. *Theriogenology.* 2007; 68 Suppl 1: S232 – S241.

Wiltbank JN, Hawk, Kidder HE, Black WG, Ulberg LC, Casida LE. Effect of progesterone therapy on embryo survival in cows of lowered fertility. 1956. *J. Dairy Sci*; 39: 456-461.

Wiltbank M, Lopez H, Sartori R, Sangsritavong S. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology.* 2006; 65: 17-29.

Zarco QLA. Factores que afectan los resultados de la inseminación artificial en el bovino lechero. *Rev. Vet. Mex.* 1990; 21: 235-240.

Zarco QLA, Hernández CJ. Momento de ovulación y efecto del intervalo entre el inicio del estro y la inseminación artificial sobre el porcentaje de concepción de vaquillas Holstein. *Rev. Vet. Mex.* 1996; 27:279-283.

Zavy MT Embryonic mortality in cattle. In: Zavy MT, Geisert RD, editors. *Embryonic mortality.*