



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

**INCIDENCIA DE PARTOS GEMELARES, RESPUESTA ESTRAL Y FERTILIDAD**  
**EN VACAS LECHERAS TRATADAS CON PROGESTERONA SEIS DÍAS ANTES**  
**DE LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO CON PGF2 $\alpha$**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR EL GRADO DE**  
**MAESTRO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y SALUD ANIMAL**

**PRESENTA:**  
**MARTÍN ADOLFO OROZCO LÓPEZ**

**TUTOR PRINCIPAL: JOEL HERNÁNDEZ CERÓN, FMVZ-UNAM**  
**COMITÉ TUTORAL: CARLOS GUILLERMO GUTIÉRREZ AGUILAR, FMVZ-UNAM**  
**MARIA TERESA SÁNCHEZ TORRES ESQUEDA, COLEGIO DE POSGRADUADOS**

**MÉXICO, D.F. MAYO, 2014**



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

Martín Adolfo Orozco López

## DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a todos mis seres queridos, en partes iguales, por ser mi apoyo y aliento tanto en los momentos complicados como los de profunda alegría.

A mis padres, hermanos, tía Esther, a toda mi familia, amigos, compañeros, maestros, mascotas (Adelita y Goya), jefes, subordinados, novias, rivales, enemistades, empatías, ciudad Chihuahua, Distrito Federal, músicos y actores favoritos, novelistas y ensayistas de mi agrado, Coyoacán, Santo Domingo, Cineteca Nacional, Café Jarocho, “El Mesón de la Guitarra”, “Teatro Bar Vicio”, los Pumas de la UNAM y a todas aquellas personas, lugares y cosas que son o que fueron importantes, lo único que le puedo decir es que les estoy profundamente agradecido.

*"En el mismo comienzo del Génesis está escrito que Dios creó al hombre para confiarle el dominio sobre los pájaros, los peces y los animales. Claro que el Génesis fue escrito por un hombre y no por un caballo. No hay seguridad alguna de que Dios haya confiado efectivamente al hombre el dominio de otros seres. Más bien parece que el hombre inventó a Dios para convertir en sagrado el dominio sobre la vaca y el caballo, que había usurpado. Sí, el derecho a matar un ciervo o una vaca es lo único en lo que la humanidad coincide fraternalmente, incluso en medio de las guerras más sangrientas. Ese derecho nos parece evidente porque somos nosotros los que nos encontramos en la cima de esa jerarquía. Pero bastaría con que entrara en el juego un tercero, por ejemplo un visitante de otro planeta al que Dios le hubiese dicho: «Dominarás a los seres de todas las demás estrellas», y toda la evidencia del Génesis se volvería de pronto problemática. Es posible que el hombre uncido a un carro por un marciano, eventualmente asado a la parrilla por un ser de la Vía Láctea, recuerde entonces la chuleta de ternera que estaba acostumbrado a trocear en su plato y le pida disculpas (¡tarde!) a la vaca".*

*Milan Kundera., La Insoportable Levedad del Ser*

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México y en especial a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por todo lo que me han aportado, y el significado que le han dado a mi vida.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado, el cual fue fundamental para que pudiera concluir este proyecto.

A los miembros de mi comité tutor quienes contribuyeron de manera muy valiosa en la elaboración de esta tesis.

A mis amigos de la facultad por todos los momentos, experiencias y apoyo que siempre me han brindado.

Al rancho Eucaliptos de Gómez Palacios, Durango, y a sus trabajadores quienes contribuyeron de manera vital, ya que sin su ayuda desinteresada y generosa jamás se hubiera podido realizar este trabajo.

Al IN219811-3 de la Universidad Nacional Autónoma de México por el apoyo brindado.

## RESUMEN

### INCIDENCIA DE PARTOS GEMELARES, RESPUESTA ESTRAL Y FERTILIDAD EN VACAS LECHERAS TRATADAS CON PROGESTERONA SEIS DÍAS ANTES DE LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO CON PGF2 $\alpha$

En el presente estudio se evaluó si el incremento de las concentraciones séricas de progesterona durante seis días antes de la sincronización del estro con PGF2 $\alpha$  aumenta la respuesta estral y el porcentaje de concepción, y si reduce la incidencia de partos gemelares en vacas lecheras. Se utilizaron 783 vacas Holstein de primer servicio, las cuales se sincronizaron con dos inyecciones de PGF2 $\alpha$  aplicadas con 14 días de intervalo a partir de los días 35 y 40 posparto. Seis días antes de la segunda inyección de PGF2 $\alpha$  se les asignó al azar al grupo: P4 (n=387), que recibió un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (PRID) y una inyección de 500 mg de progesterona por vía intramuscular, o al grupo Testigo (n=396), que no recibió el PRID ni progesterona inyectable. Las vacas se inseminaron 12 horas después de observadas en estro. Los estros se detectaron bajo observación y monitoreo continuo por medio de podómetros y parches detectores de monta (Estrotect). El diagnóstico de gestación al primer servicio se realizó entre los días 40 y 45 después de la inseminación mediante palpación rectal. Se determinaron las concentraciones de progesterona diariamente en siete vacas de cada grupo a partir del día de la administración de la progesterona hasta el día inyección de la PGF2 $\alpha$ . Las concentraciones de progesterona durante ese periodo fueron mayores en el grupo P4 que en el testigo (P<0.05). La respuesta al tratamiento varió de acuerdo con el número de partos de las vacas (P<0.05). Así, en el grupo P4 aumentó la proporción de vacas observadas en estro en las vacas multíparas [(192/255) 75.2% vs (161/267) 60.2%], pero no en las primíparas [93/132

(70.4%) vs 90/129 (69.7%)]. El tratamiento con progesterona aumentó el porcentaje de concepción en las vacas multíparas [53/192 (27.6%) vs 27/161 (16.7%)], pero no en las primíparas [25/93 (26.8%) vs 29/90 (32.2%)]. Asimismo, la administración de progesterona incrementó la proporción de vacas gestantes en el día 90 posparto en las vacas multíparas [149/255 (58.4%) vs 129/267 (48.3%)], pero no en las primíparas [77/132 (58.3%) vs 82/129 (63.5%)]. La incidencia de partos gemelares fue menor ( $P=0.07$ ) en las vacas tratadas con progesterona (1/74; 1.3%) que en las testigo (4/53; 7.5%). Se concluye que en este estudio la administración de progesterona antes de la sincronización del estro con  $PGF2\alpha$  en vacas Holstein de primer servicio mejoró la respuesta estral, incrementó el porcentaje de concepción y la proporción de animales gestantes en el día 90 posparto en vacas multíparas, pero no en las primíparas y disminuyó numéricamente los partos gemelares.

Palabras clave: Partos gemelares, fertilidad, progesterona, vacas lecheras.

## ABSTRACT

### INCIDENCE OF TWIN BIRTHS, ESTRAL RESPONSE AND FERTILITY IN DAIRY CATTLE TREATED WITH PROGESTERONE SIX DAYS BEFORE OESTRUS SYNCHRONIZATION WITH PGF2 $\alpha$

In the present study we evaluated if the increase in progesterone serum concentration during six days before the synchronization of the estrus with PGF2  $\alpha$ , increases the estrous response and the percentage of conception rate, and if it reduces the incidence of twin births in dairy cows. 783 cows were used for the first service, which were synchronized with two PGF2  $\alpha$  injections applied 14 days in range between each other, starting from the days 35 to 40 postpartum. Six days before the second PGF2  $\alpha$  injection, it was assigned randomle: P4 (n=387), which received a progesterone-releasing intravaginal device (PRID) and a 500mg progesterone intramuscular injection, or the control group (n=396), which did get neither the PRID nor the progesterone injection. The cows were inseminated 12 hours after estrus was observed. Estruses were detected under continuous observation and monitoring through pedometers and detectors mounted patches (EstroTECT). The pregnancy diagnosis was performed between the 40<sup>th</sup> and 45 days after the insemination through rectal palpation. Progesterone concentrations were determined daily with seven cows of each group starting the day the progesterone was administered until the day the PGF2  $\alpha$  was injected . The progesterone concentrations during this period were higher in the P4 group that in the control group (P<0.05). The answer to the treatment varied according to the number of births the cows had (P < 0.05). So, in the P4 group, the proportion of cows observed in estrus increased in the multiparous cows [(192/255) 75.2% vs (161/267) 60.2% ], but not in primiparous [93/132 (70.4%) vs 90/129 (69.7%)]. The treatment with

progesterone, increased the percentage of the conception in multiparous cows [53/192 (27.6%) vs 27/161 (16.7%)], but not in the primiparous [25/93 (26.8%) vs 29/90 (32.2%)]. Also, the progesterone administration increased the proportion of pregnancy on day 90 postpartum with multiparous cows [149/255 (58.4%) vs 129/267 (48.3%)], but not with the primiparous [77/132 (58.3%) vs 82/129 (63.5%)]. The incidence of twin births was lower ( $P=0.07$ ) in cows treated with progesterone (1/74; 1.3%) than in control group (4/53; 7.5%). We conclude that in this study the administration of progesterone before estrus synchronization with PGF<sub>2a</sub> in Holstein cows at first service improved estrous response, conception rate increased and the proportion of pregnant animals on day 90 postpartum in multiparous cows, but not in primiparous and numerically Decrease the twin births.

Key words: Twin-births, fertility, progesterone, dairy cows.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	5-6
1. INTRODUCCIÓN.....	10-12
2. REVISIÓN DE LITERATURA: .....	13-35
2.1.FACTORES QUE AFECTAN LA FERTILIDAD EN LA VACA LECHERA:	
2.1.1. INICIO DE ACTIVIDAD OVÁRICA	
2.1.2. NUTRICIÓN	
2.1.3. ESTRÉS CALÓRICO	
2.1.4. ESTRÉS OXIDATIVO	
2.1.5. NÚMERO DE VACAS	
2.1.6. PATOLOGÍAS DEL PUERPERIO	
2.1.7. DEFICIENTE DETECCIÓN DE CELOS	
2.1.8. DESARROLLO FOLICULAR Y DOBLE OVULACIÓN	
2.1.9. ESTRATEGIAS PARA MEJORAR LA FERTILIDAD:	
• PROGESTERONA	
• GnRH o hCG AL MOMENTO DE LA INSEMINACIÓN	
• GnRH o hCG EL DÍA 5 O 6	
• GnRH o hCG EN LOS DÍAS 12 A 14 POS INSEMINACIÓN	
• HORMONA DEL CRECIMIENTO BOVINA (bST)	
3. HIPÓTESIS.....	36
4. OBJETIVOS: .....	37
4.1.OBJETIVO GENERAL	
4.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS	
5. MATERIAL Y MÉTODOS: .....	38-40
5.1.ANIMALES EXPERIMENTALES Y TRATAMIENTOS	
5.2.TOMA DE MUESTRAS Y MEDICIÓN DE PROGESTERONA	
5.3.ANÁLISIS ESTADÍSTICO	
6. RESULTADOS.....	41-44
7. DISCUSIÓN.....	45-51
8. CONCLUSIONES.....	52
9. BIBLIOGRAFÍA.....	53-63

## 1. INTRODUCCIÓN

En algunos estudios se ha observado que los niveles séricos de progesterona en el ciclo estral previo a la inseminación tienen un efecto significativo sobre la fertilidad. Por ejemplo, Fonseca *et al.* (1983) observaron que las vacas con mayores concentraciones sanguíneas de progesterona durante la fase lútea previa al servicio tuvieron un porcentaje de concepción más alto que las vacas con menores concentraciones. Se ha sugerido que muchas vacas lecheras de alta producción tienen concentraciones séricas de progesterona subnormales (1 a 2 ng/ml; Lonergan, 2011) debido a que su alto consumo de materia seca induce un alto ritmo de metabolismo hepático, lo cual incrementa la tasa de eliminación de las hormonas esteroides por esta vía (Sangsritavong *et al.*, 2002; Vasconcelos *et al.*, 2003). Se ha postulado que las concentraciones séricas subnormales de progesterona en este tipo de vacas no son suficientes para suprimir de manera adecuada la frecuencia de la secreción de pulsos de LH (García *et al.*, 2004). En 1993 Savio *et al.* midieron los pulsos de LH entre los días 10 y 19 en vacas lecheras, a las cuales se les administró una fuente externa de progesterona y pudieron constatar que la frecuencia de pulsos de LH fue mayor en las vacas a las que se les aplicó una fuente inferior de progesterona, lo cual provocó alteraciones en la dinámica folicular, como periodos de dominancia folicular más largos que conllevó a un envejecimiento del folículo ovulatorio. En un experimento de Revah y Butler (1996) pudieron comprobar que el 100% de los óvulos liberados de folículos persistentes presentan alteraciones que comprometen su viabilidad. La persistencia folicular ocasiona folículos ovulatorios más grandes, y aumento de la tasa de ovulación (ovulación múltiple; Wiltbank *et al.*, 2011). Los periodos prolongados de dominancia folicular afectan la secreción de estradiol del folículo ovulatorio, el potencial de los ovocitos para desarrollar un embrión

viable y, en consecuencia, la fertilidad subsiguiente (Cerri *et al.*, 2009; Wiltbank *et al.*, 2006, 2011). Además, la sola sobreexposición del folículo dominante a una frecuencia alta de los pulsos de LH puede disminuir el porcentaje de concepción (Cerri *et al.*, 2009; Wiltbank *et al.*, 2011), ya que se condensan los cromosomas y se reinicia la meiosis antes de que se dé el pico de LH, con lo cual disminuye la calidad y viabilidad de los óvulos (Mihm *et al.* 1994).

Se ha observado un incremento en la proporción de vacas con ovulaciones múltiples, lo que ha provocado un aumento de partos gemelares (Fricke y Wiltbank, 1999; Lopez-Gatius *et al.*, 2005). Las gestaciones gemelares no son deseables porque aumenta el riesgo de pérdida de la gestación y, si ésta llega a término, el riesgo de distocia es alto (Wiltbank *et al.*, 2006). Esta alta incidencia de gestaciones gemelares podría estar asociada con las concentraciones subnormales de progesterona en las vacas lecheras, ya que Wiltbank *et al.*, (2011), observaron que el incremento de las concentraciones séricas de progesterona antes de la sincronización de la ovulación e inseminación a tiempo fijo (Ovsynch) aumenta el porcentaje de concepción, disminuye las pérdidas de gestaciones entre el día 29 al 57 posinseminación y reduce la incidencia de ovulación múltiple.

Por todo lo anterior, una estrategia para mejorar la respuesta estral y la fertilidad en los programas reproductivos basados en la utilización de la PGF2 $\alpha$  en ganado lechero con manejo intensivo, es la suplementación con progesterona antes de la sincronización final. En muchos hatos lecheros el programa reproductivo se basa en la inyección sistemática de PGF2 $\alpha$  cada 14 días comenzando entre el día 30 y 35 posparto, y el primer servicio se realiza en el estro detectado después de la segunda inyección de PGF2 $\alpha$ . Una manera de

aumentar la concentración de progesterona durante la fase lútea previa a la inseminación es mediante el uso de dispositivos intravaginales liberadores de progesterona; sin embargo, estos dispositivos en vacas de alta producción generan concentraciones séricas de progesterona entre 0.8 y 1 ng/mL (Cerri *et al.*, 2009; Lima *et al.*, 2009), lo cual tendría un efecto marginal en el recambio folicular y en la sincronización de la oleada folicular. En cambio, se ha observado que el tratamiento agudo con progesterona provoca la atresia del folículo dominante y el surgimiento de la siguiente oleada folicular (Bergfeld *et al.*, 1996; García *et al.*, 2004). En este contexto, es posible que la combinación de un incremento agudo ocasionado por la inyección de progesterona, seguido por un aumento moderado y sostenido de las concentraciones séricas de progesterona como consecuencia de la presencia de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona durante los días previos al estro sincronizado, favorezcan un ambiente hormonal propicio para el desarrollo del folículo ovulatorio que genere mejor respuesta estral, mayor probabilidad de concepción por mejor calidad del ovocito, y menor incidencia de partos gemelares.

En el presente estudio se evaluó si el incremento de las concentraciones séricas de progesterona durante seis días antes de la sincronización del estro con PGF $2\alpha$  incrementa la respuesta estral y el porcentaje de concepción, y si reduce la incidencia de partos gemelares en vacas lecheras.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA:**

### **2.1. FACTORES QUE AFECTAN LA FERTILIDAD EN LA VACA LECHERA:**

En las últimas décadas la fertilidad en la vaca lechera ha disminuido casi un punto porcentual cada año, lo cual coincide con un incremento sostenido de la producción lechera. En los establos lecheros de los Estados Unidos de América (Butler, 1998; Lucy, 2007; Rodríguez *et al.*, 2009) se ha observado una reducción de la concepción en los últimos 40 años; en los años sesenta se lograba preñar al 65% de las vacas inseminadas al primer servicio, en la actualidad el porcentaje de concepción en el primer servicio es alrededor de 30 % (Mann, 2001; Tixi *et al.*, 2009).

Es incuestionable que hay una relación entre el incremento de la producción láctea y el decremento de la fertilidad en la vaca lechera; sin embargo, la genética asociada a una mayor producción no disminuye la fertilidad, sino los cambios metabólicos impuestos por la producción de grandes volúmenes de leche, asociados con factores ambientales, hormonales, y factores de manejo propios de la industrialización de los hatos lecheros (Villa-Godoy *et al.*, 1988; Lucy *et al.*, 1992, Butler, 2000; López-Gatius *et al.*, 2006; Hernández y Gutiérrez, 2007). Se puede decir también que la alta producción de leche es un factor de riesgo de falla reproductiva, que se agrava cuando está asociada con deficiencias en el manejo general del hato.

El porcentaje de vacas gestantes en el día 90 posparto es un buen indicador de la fertilidad de un hato, ya que este se ve afectado por el manejo del puerperio, el inicio de la actividad ovárica posparto y la tasa de preñez. Las enfermedades del puerperio, como la retención placentaria, metritis y endometritis afectan negativamente la fertilidad, ya que retrasan el periodo del parto al primer servicio y pueden ocasionar falla en la fertilización y muerte embrionaria temprana (Chebel *et al.*, 2004; Dohoo *et al.*, 2003; Gröhn y Rajala, 2001). La

tasa de preñez está determinada por la proporción de vacas detectadas en calor del total elegible y por el porcentaje de concepción.

### **2.1.1. INICIO DE ACTIVIDAD OVÁRICA POS PARTO**

Uno de los parámetros que se ha relacionado directamente con la fertilidad en la vaca lechera es el inicio de la actividad ovárica posparto. En la actualidad se sabe que el tiempo transcurrido entre el parto y la primera ovulación ha ido en aumento. Revah et al., había detectado en 1989 que el intervalo entre parto y la primera ovulación en Aguascalientes y Torreón, era de 25 y 31 días respectivamente. En trabajos posteriores ha sido reportado que en México la primera ovulación después del parto en ganado lechero en producción familiar o en baja escala (baja producción) ocurre entre 30 y 34 días después del parto (Salas, 1998), en contraparte en los sistemas intensivos de alta producción el intervalo del parto a la primera ovulación es de alrededor de 42 días (Lara *et al.*, 2002). Se han registrado algunos cambios en las características de las fases lúteas en la primera ovulación de vacas altas productoras (Lara *et al.*, 2002), se ha visto que el 23% de las vacas presenta fases lúteas largas durante el posparto, coincidiendo con lo descrito en otros trabajos (Opsomer *et al.*, 1998; Lamming *et al.*, 1998), en los cuales ha sido una variante la incidencia de las fases lúteas anormales. En otros estudios se muestra que las vacas que han tenido más ciclos estrales antes del primer servicio son más fértiles que las vacas inseminadas sin ciclos previos (Butler y Smith, 1989; Darwash *et al.*, 2001).

La primera ovulación posparto generalmente no es acompañada de conducta estral. En un ciclo normal la progesterona impide la secreción de la PGF2 $\alpha$  mediante la inhibición de la formación de receptores para estradiol (Hafez, 2004). Después de 12 a 14 días el endometrio se vuelve insensible a la influencia de la progesterona, empezando a surgir receptores para estradiol. El estradiol producido por el folículo dominante estimula la síntesis de receptores para oxitocina. En un principio la secreción de oxitocina es de origen hipotalámico para posteriormente ser producida por el cuerpo lúteo. Los pulsos de

oxitocina desencadena la secreción  $\text{PGF2}\alpha$ , con un intervalo de 6 a 8 horas, requiriéndose de 5 a 6 episodios para que se produzca la luteólisis (Hernández, 2012). El cuerpo lúteo que se forma en la primera ovulación sufre una regresión prematura entre los días 4 y 6 después de la ovulación (Urzúa, 2010). Esto se debe a que como el endometrio no ha sido estimulado previamente por progesterona de una fase lútea anterior, aparecen prematuramente receptores a estradiol, por lo cual el estradiol de la primera oleada folicular favorece la formación de receptores para oxitocina, con lo cual se desencadenara la secreción prematura de prostaglandina  $\text{F2}\alpha$  alrededor del día 5 posovulación (Garverick *et al.*, 1992; Peter *et al.*, 1989).

Los cambios metabólicos que ocurren en la transición del estado seco a la lactancia (últimos 21 días de la gestación y los primeros 21 días posparto) determinan el intervalo entre el parto y la primera ovulación. Dos semanas antes del parto el consumo de materia seca de la vaca disminuye y es común que en los primeros 60 días posparto la vaca pierda un punto o más de condición corporal, en una escala de 1 a 5 (Villa-Godoy *et al.*, 1988). La pérdida de más de 1 punto de condición corporal en el transcurso de las primeras 4 semanas posparto alarga el tiempo comprendido entre el parto y la primera ovulación (Butler, 1998). La vaca lechera después del parto sufre un ajuste homeorrético caracterizado por movilización de tejidos (grasa y proteína) para cubrir las necesidades de la lactación, ya que el consumo de materia seca está disminuido (Butler, 2003).

El periodo de transición es un periodo muy importante en la vaca lechera, ya que es el tiempo de mayor crecimiento fetal, ocurre el parto y metabólicamente suceden cambios importantes, ya que la vaca pasa de un estado de no producción de leche a la lactancia (Bell, 1995). El manejo aplicado en este periodo se reflejará en el desempeño productivo y reproductivo de la siguiente lactancia. El manejo del periodo de transición está orientado principalmente a promover una condición corporal óptima y un mayor consumo en materia seca, que le permita a la vaca tener menor movilización de grasa en el posparto. La movilización excesiva de grasa provoca degeneración grasa del hígado (hígado graso) y

cetosis. El hígado graso es más grave en vacas que llegan al parto con obesidad (condición corporal de  $\geq 3.5$ ) (Taylor, 2004; Butler *et. al.*, 2004).

Una de las estrategias durante el periodo de transición comprende en administrar dietas con carbohidratos no estructurales y grasas. No obstante, con el manejo de estas dietas en el periodo preparto no ha sido posible disminuir la lipomovilización; sin embargo, sí se ha podido influir favorablemente en aspectos bioquímicos y fisiológicos asociados con el metabolismo mineral (hipocalcemia, hipomagnesemia), en la respuesta inmune (retención placentaria, metritis, mastitis) y en el metabolismo energético (cetosis, hígado graso y acidosis ruminal). Todos los aspectos mencionados anteriormente están asociados con la eficiencia reproductiva (Lucy, 2001).

Entre los días 10 y 20 del posparto las vacas lecheras llegan a su punto más bajo de balance energético y continúan en un balance energético negativo (BEN) hasta los días 70 a 80, e incluso en algunas ocasiones seguirán con un BEN hasta el día 100 posparto (Villa-Godoy *et al.*, 1988). En los primeros 20 días posparto se observan ondas foliculares en las que ninguno de sus folículos conseguirá madurar y ovular debido que existe un patrón de secreción inadecuado de la LH (Canfield *et al.*, 1990). Cuando el balance energético pasa su punto más bajo y comienza a mejorar aumenta la frecuencia de secreción de la LH, con lo cual termina de madurar el folículo dominante y ocurre la primera ovulación posparto (Hernández y Gutiérrez, 2007).

### **2.1.2. NUTRICIÓN**

Las vacas en producción con una inadecuada nutrición pueden verse afectadas con un retraso significativo en el reinicio de la función ovárica posparto y su tasa de concepción (Boland *et al.*, 2001).

Las dietas de las vacas lecheras cada vez tienen mayor concentración de nutrimentos y están formuladas con un alto contenido de proteína cruda y energía metabolizable (Lucy, 2007). Debido a la producción láctea las vacas aumentan sus requerimientos energéticos y caen en un balance energético negativo (BEN). Se sabe que las vacas alcanzan su BEN más bajo (nadir) alrededor de los 10 a 20 días posparto y que pueden durar en esta condición 70 u 80 e incluso hasta 100 días posparto (Villa-Godoy et al., 1988). La baja disposición de energía metabolizable no solo afecta suprimiendo la secreción pulsátil de LH sino también la respuesta ovárica al estímulo de LH. Del mismo modo se ve alterada la dinámica folicular por la disminución en la concentración sérica de la glucosa e insulina así como del factor de crecimiento semejante a la insulina tipo I (IGF-I) (Butler, 2004).

Las dietas con un alto contenido proteico pueden provocar una disminución de la fertilidad ya que el consumo excesivo de proteína (>18%) y una deficiencia relativa de carbohidrato ocasiona un aumento de amoniaco en el rumen. Este compuesto se absorbe y se degrada a urea y las concentraciones mayores de 20 mg/dl se asocian a una baja de la fertilidad, ya que afectan la viabilidad de los espermatozoides, óvulos y embriones (Butler, 1998). Una estrategia para aminorar este efecto adverso de la dieta es el manejo adecuado del periodo de transición, con la finalidad de regular la normocalcemia, fortalecer el sistema inmune, adaptar el rumen a una dieta alta en energía e incrementar el consumo de materia seca (Hernández, 2012).

Al dar dietas basadas en consumo de granos con la finalidad de aportar los requerimientos energéticos necesarios para el mantenimiento y la producción lechera, es frecuente que se presenten alteraciones subclínicas en el PH ruminal, lo que afecta negativamente los índices de concepción (Santos *et al.*, 2003). Aunque no se conoce totalmente los factores que desencadenan la acidosis ruminal, se sabe que dietas mal formuladas, con exceso de concentrado en relación al forraje (ejemplo una relación, 70:30) con fibra de mala calidad o forraje cortado en partículas muy pequeñas que no estimulan la rumia, pueden desencadenar un pH ruminal por debajo de 6, por más de 3 horas al día, lo cual favorece el

inicio de la acidosis ruminal (Plaizier, 2007). Un factor que contribuye a la pérdida temprana de gestación es la acidosis ruminal, aunque la relación no está totalmente clara se puede especular que es debido a la absorción de endotoxinas y liberación de prostaglandinas (Plaizier, 2007; Hernandez y Gutiérrez, 2007).

La semilla de algodón es otro ingrediente que se utiliza con frecuencia dentro de las dietas de las vacas lecheras. Esta semilla es una excelente fuente de energía, proteína y fibra, pero contiene altas concentraciones de gossipol. Las dietas que se ofrecen generalmente ocasionan concentraciones plasmáticas de gossipol menores de 5 microgramos, las cuales entran en el rango de seguridad evitando su toxicidad. Concentraciones por arriba de los 5 microgramos afectan la fertilidad y en ocasiones la utilización de variedades con mayor contenido de ese pigmento (variedad “Pima”) nos puede generar una concentración por encima del rango de seguridad (Santos *et al.*, 2003). También en estudios *in vitro* se ha visto que concentraciones mayores de 5 microgramos poseen un efecto negativo en el desarrollo de los embriones (Hernández *et al.*, 2005).

### **2.1.3. ESTRÉS CALÓRICO**

En México en algunas regiones el efecto negativo sobre la fertilidad del estrés calórico ha sido muy evidente. En la Comarca Lagunera el porcentaje de concepción al primer servicio decrece drásticamente en verano (Lozano, 2004). En el norte de Estados Unidos y en Canadá también se ha observado una tendencia a la baja en la fertilidad debida al estrés calórico durante la temporada cálida (Kadzere *et al.*, 2002).

Las vacas lecheras son sensibles a las altas temperaturas ambientales, prueba de ello es el hecho de que la fertilidad disminuye cuando se encuentran en climas calurosos o durante los meses cálidos de año. El porcentaje de concepción en estas regiones en los meses

templados o fríos es alrededor de 30 a 40% y en los meses de intenso calor puede ser entre 10 y 15 % (Aréchiga, 2000).

El aumento de la producción láctea ha sido mayor en los últimos años y a la vez también el efecto del estrés calórico (Wolfenson *et al.*, 2000). Las vacas lecheras tiene un aparato digestivo más grande que las vacas que no son especializadas en la producción láctea, pueden consumir más alimento y generar mayor calor metabólico, lo que determina un incremento de la temperatura corporal entre 39.5°C y 41°C (Hansen *et al.*, 2001).

Los embriones de dos células son más susceptibles al estrés calórico que aquellos en estadios más avanzados del desarrollo (Edwards y Hansen, 1997). Se ha observado que el estrés calórico durante los días 1 y 7 del desarrollo afecta a los embriones de vacas superovuladas. Embriones en condiciones *in vitro* sometidos a temperaturas por encima de 39 °C, difícilmente alcanzan la etapa de blastocito (Hansen *et al.*, 2001). También el estrés calórico puede afectar los mecanismos maternos del reconocimiento de la gestación, una alta temperatura corporal puede interferir con el embrión para producir interferón tau (Putney *et al.*, 1998).

El efecto que produce el estrés calórico es perjudicial para los ovocitos en sus diferentes etapas durante el desarrollo folicular, por eso se observa también un efecto residual durante los meses posteriores a la época más calurosa del año (Roth *et al.*, 2001).

#### **2.1.4. ESTRÉS OXIDATIVO**

Las vacas lecheras altas productoras, como las que se trabajó en el presente estudio, requieren mayores sustancias antioxidantes dado a que su metabolismo oxidativo es mayor en razón al elevado consumo de energía metabolizable (Hernández y Gutiérrez, 2007;

Sangsrivong et al., 2002). Las vacas lecheras con una intensa producción transforman del 1% al 2% el oxígeno que consumen en radicales libres a nivel celular, los cuales dañan las estructuras proteínicas (Nockels, 1996). Las especies reactivas de oxígeno se eliminan por medio de un sistema antioxidante. Este sistema incluye elementos como los  $\beta$ -caroteno y vitamina E, además de enzimas como la glutatión peroxidasa dependiente de selenio (Aréchiga *et al.*, 1998).

Un incremento en la producción de radicales libres puede superar al sistema antioxidante. Los tejidos esteroideogénicos del ovario, los espermatozoides y los embriones en etapas tempranas, son sensibles a la sobreproducción de radicales libres y su efecto disminuye la fertilidad (Aréchiga, 1999; Ortega, 2006).

La suplementación de beta-carotenos, vitamina E y selenio es una práctica común y contribuye a disminuir los efectos adversos producidos por los radicales libres (Aréchiga *et al.*, 1998; Ortega, 2006). La administración parenteral de selenio y vitamina E se ha utilizado para tratar de disminuir los desórdenes reproductivos del posparto y mejorar la fertilidad. Así, se ha observado que el tratamiento con selenio (50 mg) y vitamina E (680 UI) 21 días antes del parto, reduce la incidencia de retención placentaria e incrementa la fertilidad (Aréchiga, 1994). Asimismo, la administración de un tratamiento similar en el día 30 posparto mejora la fertilidad (Aréchiga, 1998). La respuesta a los tratamientos parenterales de selenio y vitamina E puede obedecer, en gran parte, al contenido de selenio y vitamina E en la dieta y al grado de estrés oxidativo de las vacas incluidas en esos estudios, el cual depende principalmente de su capacidad de producción de leche. En los últimos 30 años la producción de leche se ha duplicado y con ello los requerimientos de antioxidantes (Lucy, 2001).

### 2.1.5. NÚMERO DE VACAS POR HATO

En regiones lecheras del país como en ciudad Delicias, Chihuahua, en la Comarca Lagunera, los hatos lecheros han ido creciendo con respecto al número de animales. En los hatos con mayor población de animales se observan más problemas de manejo (Urzúa, 2010). Así al ser establos más grandes e incrementarse la diversificación de las actividades (hatos con tres ordeños, por ejemplo) es común que tanto los ganaderos como los trabajadores pierdan con mayor facilidad el control de las principales actividades (Hernández y Gutiérrez, 2007). A la vez, el confinamiento de los animales en grupos numerosos podría ir en detrimento de la fertilidad, ya que aumenta el riesgo de problemas que afectan la reproducción, tales como: retención placentaria, endometritis, infecciones uterinas (Gröhn *et al.*, 2000; Urzúa, 2010). En Estados Unidos el crecimiento del tamaño de los hatos ha sido bien documentado. Se ha identificado un incremento de hatos de más de 200 vacas y en la actualidad más del 30% de los hatos son de más de 500 vacas, lo cual muestra un aumento en el número de los animales en los establos lecheros (Lucy, 2001). En México se observó que de 1989 a 1999 existió un incremento en la producción láctea de más del 35%. Al revisarse este aumento en la producción de leche se observó que en mayor medida se produjo en las cuencas lecheras de los estados de Chihuahua, Durango, Coahuila y Aguascalientes, donde la producción individual por animal creció al mismo tiempo que se incrementó el número de animales por hato lechero (Hernández y Gutiérrez, 2007). De los escasos datos que se pueden obtener en México, se observa que en la principal cuenca lechera del norte del país (Región Lagunera y Chihuahua) habido un incremento del número de vacas por hato, similar al observado en Estados Unidos. Como resultado de este incremento, en la actualidad, más de la mitad de los hatos de esta región tienen más de 1000 vacas (Figura 1),

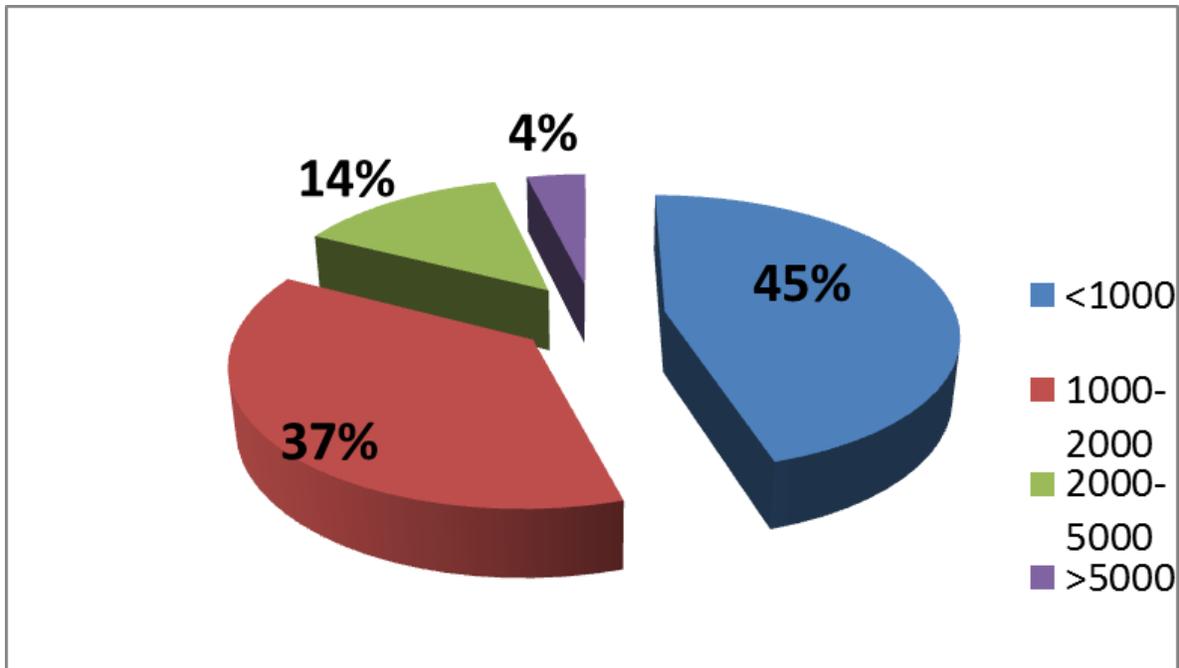


Figura 1. Distribución de los hatos de La Comarca Lagunera y Chihuahua de acuerdo con el número de vacas en producción (183 establos; 289,040 vacas en producción). Fuente: Distribuidores de insumos para vacas lecheras (2009).

### 2.1.6. PATOLOGÍAS DEL PUERPERIO

Durante el tiempo que comprende el puerperio concurren dos procesos fundamentales en la vacas lecheras: la involución uterina y el reinicio de la actividad ovárica. En el ganado Holstein, vacas altas productoras de leche, como las que se utilizaron en este estudio, la atención médica del puerperio es primordial, ya que durante este periodo se diagnostican y se tratan las patologías uterinas que van en detrimento a la fertilidad (Sheldon et al., 2008). Unas de las estrategias para prevenir patologías o coadyuvar a resolver enfermedades del puerperio, es la aplicación de PGF2 $\alpha$  durante las primeras semanas del puerperio ya que destruye al cuerpo lúteo, aumenta las contracciones del miometrio, facilitando la involución del útero (Hernández, 2012; Wiltbank y Pursley, 2014).

En el ganado lechero las patologías uterinas del puerperio alargan el periodo del parto a la concepción, disminuyen el porcentaje de concepción al primer servicio, reducen la tasa de vacas inseminadas, alargan el periodo del parto a la primera ovulación y aumentan el

porcentaje de desecho (Sheldon *et al.*, 2006). Dentro de las patologías uterinas descritas están la retención placentaria, metritis puerperal, metritis, endometritis y recientemente se han diagnosticado casos de endometritis subclínica.

La endometritis subclínica afecta entre 30% y 40% de las vacas y reduce el porcentaje de concepción en el primer servicio (Plöntzke *et al.*, 2010; Sheldon *et al.*, 2006). La endometritis subclínica se define como una inflamación del endometrio sin signos externos de enfermedad (Plaizier, 2007). Así, al ser una condición que pasa desapercibida, las vacas afectadas terminan su periodo voluntario de espera y se integran al programa reproductivo. Debido a la dificultad para establecer un diagnóstico de la endometritis subclínica con base en algún indicador externo, el diagnóstico se fundamenta en la presencia de polimorfonucleares (PMN) en muestras de células endometriales obtenidas mediante lavados uterinos o por medio de la recolección de células con un cepillo endocervical (Cytobrush; Plöntzke *et al.*, 2010. La endometritis subclínica disminuye la proporción de vacas gestantes del total inseminado en el primer servicio (Gilbert *et al.*, 2005; Sheldon *et al.*, 2006; Plöntzke *et al.*, 2010).

Las funciones del útero están reguladas por hormonas ováricas, y el útero, a su vez, regula la vida media del cuerpo lúteo mediante la secreción de la prostaglandina  $F2\alpha$  (PGF $2\alpha$ ); así, cuando la gestación no se establece, el endometrio secreta PGF $2\alpha$  para destruir el cuerpo lúteo y con ello se genere otra oportunidad de concepción. La PGF $2\alpha$  llega al ovario a través de una vía sanguínea local, lo cual evita su degradación en los pulmones. Dicha vía está constituida por el plexo útero-ovárico. Esta red de vasos sanguíneos permite el paso de la PGF $2\alpha$  de la vena uterina a la arteria ovárica (Hafez y Hafez, 2004). El mecanismo por el cual la PGF $2\alpha$  atraviesa las paredes de los vasos sanguíneos no está claro; durante años se resumía todo a un mecanismo de contracorriente, sin embargo, hay evidencias de que este proceso está regulado por una proteína transportadora de la PGF $2\alpha$  (Garverick *et al.*, 1992). En la patología conocida como aplasia segmentaria, no se desarrolla un cuerno uterino. Las vacas con esta anomalía presentan un cuerpo lúteo persistente cuando la ovulación

ocurre del lado donde no hay cuerno uterino, ya que tampoco se desarrolla del plexo útero-ovárico (Hernández, 2012). El plexo útero-ovárico es un sistema eficaz de comunicación entre ambos órganos; sin embargo, también puede favorecer el paso a los ovarios de sustancias nocivas producidas en el útero. Hay evidencia de que las patologías uterinas posparto repercuten en la función ovárica. Los quistes foliculares son más frecuentes en las vacas que padecen infecciones uterinas (metritis y endometritis) (López-Gatius *et al.*, 2002; Pesántez *et al.*, 2012). Además, las infecciones uterinas afectan el periodo del parto a la primera ovulación; en las vacas con puerperio anormal los folículos dominantes son de menor diámetro y producen menos estradiol que en las vacas sanas. También, el cuerpo lúteo de las vacas con puerperio anormal produce menos progesterona en comparación con las vacas sanas (Mc Dougall *et al.*, 2007; Sheldon *et al.*, 2009a; 2009b). El mecanismo por el cual el proceso inflamatorio del útero afecta la función ovárica 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. Así, por ejemplo, los folículos de vacas con infecciones uterinas tienen mayores concentraciones de endotoxinas que las vacas sanas; tal parece que el ovario recibe y concentra sustancias nocivas de origen uterino (Sheldon, 2008; 2009b).

Los quistes foliculares son la patología ovárica más frecuente en el ganado bovino lechero y provocan pérdidas económicas debido al retraso del periodo del parto a la primera inseminación (Garverick, 1997; Hooijer *et al.*, 2001), por el costo de los tratamientos y por el riesgo que tienen las vacas de ser desechadas (Gröhn *et al.*, 1997; Peter, 2004). La incidencia de los quistes foliculares ha aumentado conforme se ha intensificado la producción de leche. Así, entre 15 y 30% de las vacas desarrollan esta patología en los primeros 60 días posparto (Bartett *et al.*, 1986; Kesler y Garverick, 1982; Lopez-Diaz y Bosu, 1992). Los signos clínicos de las vacas con quistes foliculares descritos en la literatura son: ninfomanía, ciclos cortos, masculinización y relajamiento de los ligamentos pélvicos (Casida *et al.*, 1944; Garm, 1949; Kesler y Garverick, 1982; Kasari *et al.*, 1996). Sin embargo, el signo que predomina es el anestro (Ball y Peters, 2004). En un estudio reciente en las condiciones de México, se revisaron los registros reproductivos de 1249

vacas en su última lactancia. Un total de 290 vacas (23.2%) presentaron quistes foliculares. Setenta y dos por ciento de las vacas tuvo esta patología después del día 70 posparto. Cincuenta y seis por ciento presentó un quiste folicular antes del primer servicio. Las vacas con puerperio anormal tuvieron mayor ( $P < 0.05$ ) incidencia de quistes foliculares (26%) en comparación con las vacas con puerperio normal (20%). De las vacas diagnosticadas vacías entre los días 42 y 50 después del servicio, 30% tuvo quistes foliculares. El número promedio de tratamientos hormonales que recibieron las vacas con quistes fue de 1.9 (rango de 1 a 6). Del total de vacas que se recuperan con el primer tratamiento, 71% reincidió con el problema. De igual manera, se encontró que la probabilidad de no estar gestantes en el día 300 posparto es de 0.29 para las vacas que tuvieron quiste foliculares y alguna patología del puerperio; 0.18 para aquellas que presentan quistes foliculares sin patologías del puerperio; 0.02 para las vacas que no presentaron quistes pero tuvieron un puerperio anormal y 0.01 para las vacas que no presentaron quistes ni patologías del puerperio ( $P < 0.05$ ). De acuerdo con estos datos una de cada cuatro vacas que padecen quistes foliculares está vacía en el día 300 posparto, lo cual coloca a las vacas con quistes foliculares en una posición de alto riesgo para ser eliminada del hato (Pesántez *et al.*, 2012).

### **2.1.7. DEFICIENTE DETECCIÓN DE CELOS**

En los últimos años se han desarrollado programas que combinan varias hormonas para que los estros y la ovulación se presenten mejor sincronizados y faciliten detectar el momento de la inseminación (Wiltbank, et al., 2014). Los tratamientos para sincronizar los estros se basan tanto en la destrucción del cuerpo lúteo por medio de  $PGF2\alpha$  así como en la inhibición de la ovulación por medio de los progestágenos (Lucy, 2001). La inhibición de la ovulación tiene lugar por la retroalimentación negativa que tiene la progesterona sobre la secreción de la GnRH a nivel hipotalámico y por lo mismo bloquea la producción de LH, consiguiendo el surgimiento de una nueva oleada folicular. El folículo surgido de esta oleada tendrá menos días de dominancia folicular y podrá tener mayor probabilidad de producir una gestación.(Wiltbank et al., 2011). Se sabe que folículos que se desarrollan dentro un ambiente progestacional alto, son folículos con mayor actividad estrogénica y los

signos de estro serán más evidente y con ello se aumentara la posibilidad que las vacas sean detectadas (Wiltbank et al., 2006). Sin embargo en México es común que 40% de las vacas no sea detectado en estro, pero en casos extremos cerca del 70% de los celos no son detectados (Hernández *et al.*, 1994). La baja detección de celos no solo afecta la fertilidad propiciando que se inseminen menos vacas, sino que afecta la relación entre el momento de la inseminación y la ovulación (Hunter, 1985). Desde hace medio siglo se ha estado utilizando el esquema de inseminación AM-PM y PM-AM, es decir las vacas detectadas en celo por la mañana se inseminan en la tarde y vacas detectadas en celo por la tarde se inseminan en la mañana. Este sistema ha arrojado buenos resultados, pero uno de los requisitos para su buena implementación es una eficiente detección de celos (Trimberger, 1948). Con una mala detección de calores no se sabe si la vaca detectada en estro acaba de empezar o va terminando su celo, esta situación incrementa la probabilidad de fertilizar óvulos viejos, los cuales tienen menor potencial para formar un embrión sano. Estos embriones generalmente mueren en los primeros días del desarrollo (Hunter, 1985).

Otro error consiste en inseminar vacas que realmente no están en estro. Algunos factores que afectan la eficiencia de detección de estros es el poco tiempo que se invierte a esta actividad, personal mal capacitado e instalaciones mal diseñadas (Lefebvre y Block, 1992).

La intensificación de la producción de leche influye negativamente en las prácticas elementales de manejo reproductivo tales como la detección de estros y la inseminación artificial (Urzúa, 2010). Se conoce que un factor que contribuye en forma importante con el bajo porcentaje de concepción es el momento del servicio (Zarco, 1990; Dransfield *et al.*, 1998). En estudios realizados en ganado Holstein en estabulación, el seguimiento de las concentraciones de progesterona en leche indica que alrededor del 5 a 30% de las vacas inseminadas no están en estro (Zarco y Hernández, 1996). Así, es posible que una proporción significativa de las vacas que se inseminan no estén en la etapa fértil del ciclo estral y esto contribuya con el bajo porcentaje de concepción.

Si en los hatos se resolviera la baja eficiencia en la detección de estros tal vez no habría necesidad de los programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), pero este problema lejos de resolverse se ha agudizado debido al incremento en el número de vacas por hato y a la disminución de la intensidad del estro provocada por un incremento en la eliminación hepática de los estrógenos (Sangsritavong *et al.*, 2002; Wiltbank *et al.*, 2006). Una forma de estimar la eficiencia en la detección de estros en los hatos lecheros es mediante la evaluación de los intervalos entre servicios; es deseable que el 100% de los intervalos entre servicios sean normales (18 a 24 días), pero se acepta que 65-70 % de ellos lo sean, y se espera que el resto de los intervalos sean cortos [ $<10\%$  ( $<17$  días)], largos [ $<10\%$  (25 a 35 días)], dobles [ $<20\%$  (36 a 48 días)], y 0% de intervalos de más de 48 días (Hernández, 2012). En un estudio realizado en la cuenca lechera de Tizayuca Hgo., (Tixi *et al.*, 2009) se encontró que de un total de 5037 intervalos entre servicios, 33.4% fueron normales (18–24 días), 5.9% cortos ( $<17$  días), 15.8% largos (25-35 días), 19.3% dobles (36-48 días), y 25.3% de más de 48 días. El porcentaje de concepción fue menor ( $P<0.05$ ) en las vacas con intervalos entre servicios cortos (30%), largos (29.9%) y dobles (32.5%) en comparación con las vacas con intervalos normales (37.3%) y mayores de 48 días (34%).

La vaca inseminada que no está gestante y no regresa en estro se le llama vaca fantasma (Phantom Cow) (Bisinotto *et al.*, 2010). Aunque ésta condición ya ha sido descrita anteriormente como un anestro poservicio, en los últimos años ha adquirido mayor relevancia debido, primero, a un aumento del número de vacas en ésta condición y, en segundo lugar porque hay más conciencia de las pérdidas económicas que ocasiona. Se espera que después de la inseminación 60% de las vacas servidas regresen en estro, sin embargo, sólo son detectadas la mitad de ellas (30%) y el resto cae en la condición de vacas “fantasma”. Aunque la causa principal del retraso del retorno al estro es la baja eficiencia en la detección de estros, se han descrito otras causas como: estro sin ovulación, inseminación a tiempo fijo en vacas en anestro, anestro después del servicio, fases lúteas largas y muerte embrionaria (Dransfield, 1998; Vanroose *et al.*, 2000; Susuhi, 2001).

Para disminuir los casos de vacas “fantasma” se cuenta con el diagnóstico de la gestación mediante ecografía en los días 28 a 30 posinseminación. La identificación de las vacas vacías en forma temprana permite su resincronización e inseminación. El retorno al estro es el primer recurso para identificar a las vacas no gestantes; sin embargo, debido a la baja eficiencia en la detección de calores, la mitad de las vacas vacías no se observan cuando regresan al estro y resultan vacías en el diagnóstico de gestación (Hunter, 1985). La palpación rectal es la técnica de diagnóstico de gestación más utilizada en el campo, pero no es confiable ni recomendable en gestaciones menores de 35 días, ya que la manipulación puede ocasionar muerte embrionaria, por tal razón los clínicos prefieren hacerlo entre los días 45 y 50 posinseminación. La ecografía es una técnica inocua que permite diagnosticar gestaciones a partir del día 28 posinseminación, lo que adelanta la integración de las vacas vacías al programa de servicios (Lucy, 2001). Sin embargo, este método requiere de técnicos entrenados y la compra de un ecógrafo, lo cual complica su uso (Andreu-Vázquez, 2012).

Recientemente se ha desarrollado un enzoinmunoensayo (ELISA), que permite la determinación de la Glicoproteína Asociada a la Gestación (PAG), la cual es producida por el trofoblasto (Flores *et al.*, 2012). La medición de esta glicoproteína permite identificar a las vacas gestantes a partir del día 28 posinseminación. Los resultados de campo muestran alta sensibilidad y especificidad, lo cual hacen de esta técnica una opción factible. En un estudio (Flores *et al.*, 2012) se obtuvieron muestras de sangre de 287 vacas entre los días 28 y 30 después del servicio. Posteriormente, en los días 45 y 50 se realizó el diagnóstico de gestación mediante palpación rectal. Se determinaron las concentraciones de la PAG por medio de un estuche comercial (IDEXX Livestock and Poultry Diagnostics). Se identificaron 155 vacas gestantes (54%), 120 vacías (42%) y 12 sospechosas (4%). La sensibilidad de la prueba fue de 97% con especificidad de 88%. La identificación de una vaca vacía en el día 30 posinseminación representa una reducción de al menos 15 días abiertos. El ingreso neto por cada vaca diagnosticada vacía, calculado con base en el costo de los días abiertos redimidos y en los gastos de la prueba, es de \$ 390,00.

### 2.1.8. DESARROLLO FOLICULAR Y DOBLE OVULACIÓN

Durante el ciclo estral de las vacas lecheras se presentan de dos a tres oleadas foliculares. Cada oleada folicular está compuesta por cuatro fases; reclutamiento (emergencia), selección, dominancia y ovulación o en su defecto atresia folicular (Adams *et al.*, 2008; Forde *et al.*, 2011).

Las oleadas foliculares son dependientes de gonadotropinas. En el día cero inmediatamente después de la ovulación, debido a un incremento de la FSH, inicia la primera oleada folicular. En los ciclos de dos oleadas foliculares, entre el día 9 y 10 se produce otro incremento de FSH con lo cual se reclutan nuevos folículos y uno de ellos se volverá dominante culminando su desarrollo con la ovulación. En los ciclos de tres oleadas el folículo de segunda oleada sufre atresia e inicia la tercera oleada folicular con la subsiguiente maduración y ovulación del folículo dominante de la tercera oleada (Adams *et al.*, 2008; Forde *et al.*, 2011).

Durante el diestro la hormona liberadora de gonadotropinas está inhibida por la presencia de la progesterona, con que resulta en una disminución de la frecuencia de los pulsos de LH, lo cual provoca la atresia de los folículos dominantes en cada una de las oleadas foliculares. La ovulación del folículo dominante ocurrirá hasta que ocurra la regresión del cuerpo lúteo, aumente la frecuencia de los pulsos de LH y ocurra el subsiguiente pico preovulatorio de LH (Adams *et al.*, 2008; Forde *et al.*, 2011).

Por otro lado, los niveles bajos de progesterona están relacionados con la incidencia de ovulaciones múltiples en el ganado lechero. La alta producción de leche ha influido en las vacas modificando algunos procesos de su fisiología reproductiva.

La frecuencia de vacas con ovulación múltiple está asociada con la alta producción de leche; de modo que, las vacas que producen menos de 40 kg muestran 6% de ovulaciones múltiples y aquellas que producen más de 50 kg alcanzan hasta 50%. La causa de este fenómeno no es clara, sin embargo, se han observado diferencias en las concentraciones de FSH y LH, de tal forma que las vacas que desarrollan de dos a tres folículos dominantes en una oleada folicular, presentan niveles de FSH más altos que las vacas que tienen sólo un folículo dominante (Wiltbank *et al.*, 2006). En vacas en lactación la concentración de progesterona es baja debido al aumento en el metabolismo hepático, lo que incrementa su tasa de eliminación (Sangsrivong *et al.*, 2002), los valores promedio de progesterona durante la fase lútea en estas vacas son de alrededor de 2.6 ng/ml mientras que en vacas que no están en lactación los valores son de 4 ng/ml (Sartori *et al.*, 2004). Se ha observado que las vacas que tuvieron una fase lútea con niveles de progesterona más altos en el ciclo previo a la inseminación, muestran menos ovulaciones múltiples en comparación con las vacas que tuvieron niveles de progesterona más bajos (Wiltbank *et al.*, 2006).

### **2.1.9. ESTRATEGIAS PARA MEJORAR LA FERTILIDAD:**

#### **PROGESTERONA**

En la vaca lechera entre el 80 y el 90% de los ovocitos son fertilizados, sin embargo, 40% de los embriones mueren antes del día 16 posinseminación (Mann y Lamming, 2001). Una

de las causas de la muerte embrionaria se relaciona con el retraso del desarrollo embrionario, lo cual reduce la capacidad del embrión para producir interferón tau, de tal forma que el embrión es incapaz de suprimir la síntesis de la prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) (Kerbler *et al.*, 1997; Mann y Lamming, 2001). El retraso del desarrollo embrionario puede ser consecuencia de las bajas concentraciones séricas de progesterona que padecen las vacas lecheras, lo cual se debe a que el cuerpo lúteo produce menos progesterona y a que catabolizan más rápido las hormonas esteroides (Lamming y Dawash 1998; Mann y Lamming, 1999; 2001; Wiltbank *et al.*, 2006). El tratamiento lógico consiste en la administración de progesterona; sin embargo, los estudios en los cuales se ha suplementado directamente con progesterona o en aquellos en los que se ha promovido el mejoramiento de la función lútea o el desarrollo de un cuerpo lúteo accesorio con GnRH o hCG, tienen resultados variables (Hernández y Morales, 2001).

La suplementación con progesterona en vacas en lactación ha favorecido más consistentemente el porcentaje de concepción que en vaquillas (Morales *et al.*, 2000). Se ha observado, también un efecto del tiempo después de la inseminación en que se administra el tratamiento, de tal forma que la suplementación con progesterona del día 5 al 9 posinseminación favorece el desarrollo del embrión y la secreción de interferón tau, mientras que el mismo tratamiento, entre el día 12 y el 16, no tiene efecto (Robinson *et al.*, 1989; Macmillan *et al.*, 1991).

No está totalmente claro el mecanismo de porque el incremento de progesterona antes del momento de la inseminación resulta en el incremento de la fertilidad del ganado lechero pero algunos investigadores han trabajado al respecto. Wiltbank *et al.*, 2012 reportan un

significativo aumento en la fertilidad (51% vs 37.1) y menor incidencia de ovulaciones múltiples (7% vs 20.6%) en vacas tratadas con progesterona antes de la inseminación. También reportan que en vacas con una concentración sérica mayor de progesterona antes de la inseminación tiene menor pérdidas de gestación (6.8% vs 14.3%). Rivera et al.,2011, en un experimento de superovulación pudieron constatar que los embriones colectados de vacas con mayor concentración de progesterona antes de la inseminación fueron de mejor calidad en comparación de aquellas con menor concentración sérica.

### **GNRH O HCG AL MOMENTO DE LA INSEMINACIÓN**

Durante la década de los 80 el tratamiento con GnRH o hCG al momento de la inseminación fue muy popular (Morgan y Lean, 1993). Esta forma de enfrentar la falla en la concepción se fundamenta en el concepto de que estas hormonas sincronizan la ovulación con el momento de la inseminación, previenen problemas de ovulación retardada y mejoran el desarrollo del cuerpo lúteo. Son muchos los estudios, y también la variabilidad de los resultados; el análisis de los resultados de 40 estudios publicados en 27 artículos por Morgan y Lean, indica que el tratamiento aumentó la probabilidad de gestación en los animales tratados, en particular en los animales repetidores; sin embargo, en trabajos como el de Hernández y Morales, 2001, no se ha observado un mejoramiento en la fertilidad.

### **GNRH O HCG EN EL DÍA 5 O 6**

Se han realizado evaluaciones de tratamiento que consisten en provocar la ovulación del folículo dominante de la primera onda folicular y, con ello, el desarrollo de un cuerpo lúteo

accesorio. El tratamiento con GnRH o hCG en los días 5 y 7, ha demostrado efectividad para desarrollar un cuerpo lúteo e incrementar los niveles de progesterona (Kerbler et al., 1997; Price y Webb, 1989; Thatcher et al., 2001); sin embargo, los resultados de fertilidad no han sido consistentes. En algunos de los estudios en los que se ha administrado hCG el día 5 posinseminación (Walton et al., 1990; Siagangama y Rajamahendran, 1992; Thatcher et al., 2001), se ha incrementado significativamente el porcentaje de concepción en vacas repetidoras y en aquellas con baja condición corporal; sin embargo en otros estudios el efecto ha sido nulo (Hernández y Morales, 2001).

### **GNRH O HCG EN LOS DÍAS 12 A 14 POS INSEMINACIÓN**

Para que ocurra la gestación, se debe establecer un diálogo estrecho entre el embrión en desarrollo y el ambiente materno (Thatcher et al., 1995). De esta forma, el embrión debe promover los mecanismos que evitan la regresión del cuerpo lúteo entre los días 16 y 18 posinseminación, lo cual logra mediante la secreción de interferón tau, el cual bloquea la síntesis de la  $PGF2\alpha$  (Thatcher et al., 1995; Hansen et al., 1999). Se ha propuesto que uno de los factores que contribuye con la falla en la concepción es la incapacidad del embrión para evitar la regresión del cuerpo lúteo (Thatcher et al., 1994; Albhin et al., 1991). De esta forma, la inhibición de la cascada de la secreción de la  $PGF2\alpha$ , podría mejorar los porcentajes de concepción, ya que al embrión se le daría más tiempo para alcanzar el estado óptimo de desarrollo, lo que le permitiría establecer eficientemente el mecanismo de reconocimiento materno de la gestación. Éste es el principio de los tratamientos con GnRH o hCG entre los días 12 y 14 posinseminación, los cuales buscan disminuir los niveles de estradiol circulante mediante la ovulación, luteinización o atresia de los folículos

(Macmillan et al., 1986; Mann et al., 1995). En la práctica, se han evaluado tratamientos con GnRH o hCG los días 12-14; sin embargo, los resultados en fertilidad también son muy variables (Hernández y Morales, 2001).

### **HORMONA DEL CRECIMIENTO BOVINA (bST)**

En el ganado lechero es común el uso de la bST para incrementar la producción de leche. La utilización de esta hormona en forma periódica, aumenta la producción láctea de 10 a 20%. Algunos de los efectos de la bST en la producción de leche obedecen a la acción de esta hormona; sin embargo, el mayor efecto es provocado por el factor de crecimiento parecido a la insulina tipo I (IGF-I), el cual aumenta en respuesta al tratamiento con bST (Bauman, 1992).

La bST y el IGF-I también desempeñan funciones importantes en el control de la reproducción. Las dos hormonas, participan en la regulación del desarrollo folicular, en la función del cuerpo lúteo y, especialmente, en el desarrollo embrionario temprano. Estudios *in vitro* e *in vivo*, muestran efectos favorables del IGF-I en el desarrollo embrionario. El IGF-I evita el efecto negativo de algunas sustancias tóxicas para los embriones, presentes en el medio uterino. Hernández Morales, 2001, propusieron el uso de la bST para mejorar la fertilidad en vacas repetidoras. Los primeros resultados de estos estudios demostraron que un tratamiento con 500 mg de bST el día de la inseminación y una segunda dosis 10 días después, incrementa el porcentaje de concepción en las vacas repetidoras. En un estudio posterior, en el cual se administró una sola inyección de bST al momento de la inseminación, también se observó un aumento de la fertilidad (Hernández et al., 2009).

Estos experimentos permiten proponer que la administración de bST el día del servicio aumenta el porcentaje de concepción mediante el mejoramiento del desarrollo embrionario temprano. Cabe señalar, que los experimentos referidos se hicieron con vacas que no estaban en programas de bST y sólo recibieron la inyección de la hormona en los días indicados (Hernández y Gutiérrez, 2013).

### **3. HIPÓTESIS**

El aumento de la concentración sérica de progesterona durante seis días antes de la sincronización del estro con  $\text{PGF}_{2\alpha}$  incrementa la fertilidad y disminuye la incidencia de partos múltiples en ganado Holstein lechero.

## **4. OBJETIVOS:**

### **4.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinar si el incremento sérico de la concentración de progesterona seis días antes de la sincronización del estro con  $\text{PGF2}\alpha$  aumenta la respuesta estral, el porcentaje de concepción al primer servicio, la proporción de vacas gestantes a los 90 días pos parto y disminuye la incidencia de partos múltiples en vacas lecheras Holstein.

### **4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar si existe un incremento en la fertilidad al aumentar de manera súbita los niveles de progesterona y adicionando una fuente exógena de liberación sostenida de progesterona seis días previos a la sincronización con  $\text{PGF2}\alpha$ .

Observa si existe una disminución de los partos múltiples en las vacas que se les aplicó el tratamiento.

Cuantificar el aumento sérico de la progesterona en las vacas que se les adicionó el tratamiento.

Definir si existe una interacción entre el tratamiento con las variables incluidas en el estudio.

## **5. MATERIAL Y MÉTODOS:**

### **5.1. ANIMALES EXPERIMENTALES Y TRATAMIENTOS**

El experimento se realizó en Gómez Palacio, Durango, entre agosto y diciembre de 2011, en un establo con 2000 vacas en producción, separadas en hatos por etapa productiva y 3 ordeñas por día. Se utilizaron 759 vacas Holstein con un promedio de edad de 3.5 años, 2 partos y 45 litros de producción. Las vacas que se utilizaron fueron de primer servicio y sin alteraciones clínicas aparentes, las cuales fueron alimentadas con una ración totalmente mezclada (TMR), que cubría sus requerimientos nutricionales de acuerdo con el NRC. Entre los días 35 y 40 posparto, todas las vacas se sincronizaron con dos inyecciones de PGF2 $\alpha$  (Celosil; MSD Animal Health) con 14 días de intervalo. Seis días antes de la segunda inyección de PGF2 $\alpha$  (previa a la inseminación), se les asignó aleatoriamente a dos grupos: El grupo P4 (n=387) recibió un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (PRID Delta; Ceva Salud Animal), el cual se retiró junto con la segunda aplicación de PGF2 $\alpha$ , y una inyección de 500 mg de progesterona vía intramuscular al momento la inserción del dispositivo intravaginal (Progesterona; Pfizer Salud Animal). El grupo Testigo (n=396) no recibió el PRID ni progesterona inyectable, pero sí recibió la segunda aplicación de PGF2  $\alpha$ .

Después de la segunda inyección de PGF2 $\alpha$  las vacas se observaron durante dos horas por la mañana y dos horas por la tarde por parte de 10 trabajadores del establo previamente capacitados para esa labor, los cuales también cooperaban en otras actividades dentro de la unidad productiva (6:00 a 8:00 y 17:00 a 19:00 pm), para la detección del estro. Además, se

pusieron parches detectores de monta (EstroTECT®) y se utilizaron podómetros para el registro de la actividad locomotora. Se determinó como respuesta al tratamiento cuando las vacas presentaron estro en los siguientes seis días después de la inyección de la PGF2 $\alpha$ .

Las vacas se inseminaron 12 horas después de haber mostrado signos de estro. Inmediatamente previo a la inseminación se comprobó el estro por la presencia de tono uterino y moco cervical y si la vaca demostraba signos de estro a la inspección, se inseminaba. Entre los días 40 y 45 después del servicio se realizó el diagnóstico de gestación mediante palpación rectal.

## **5.2. TOMA DE MUESTRAS Y MEDICIÓN DE PROGESTERONA**

En siete vacas de cada grupo se tomaron muestras sanguíneas cada dos días a partir del día 6 antes de la segunda inyección de PGF2 $\alpha$  (día de la inserción del PRID y de la inyección de progesterona) hasta el día de la administración de la segunda inyección de PGF2 $\alpha$ . Las muestras se recolectaron en tubos al vacío con EDTA sódico (Becton Dickinson Vacutainer Systems Franklin Lakes, NJ, USA) y se centrifugaron a 1500 g por 20 minutos para la separación del plasma, el cual se conservó en congelación (-20 °C) hasta su análisis.

Las concentraciones de progesterona se determinaron mediante radioinmunoanálisis en fase sólida (*Coat-A-Count Progesterona Diagnostic Product Corporation, USA*). La sensibilidad del ensayo fue de 0.1 ng/mL y coeficientes de variación intraensayo para el control bajo fue de 3.4% y para el control alto de 6.4%.

### 5.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los factores que contribuyen a la probabilidad de respuesta estral, preñez y proporción de vacas gestantes al día 90 pos parto, se analizaron por un modelo de regresión logística completo, aplicando un modelo de pasos hacia atrás, para eliminar a las variables exploratorias no significativas. El estadístico de Wald fue usado para determinar la significancia de las variables del modelo reducido (Wald, 1951), el cual incluyó los efectos principales y las interacciones. En análisis se realizó con el paquete estadístico SAS (9.0).

Las variables de producción de leche total (PL) fueron categorizadas como menor o igual a 40 kg o mayor de 40kg; para la paridad (P) fueron agrupados en primíparas y multíparas.

Las concentraciones séricas de progesterona se evaluaron mediante un modelo lineal mixto para mediciones repetidas en las mismas unidades experimentales. El porcentaje de vacas con parto gemelar se comparó mediante una prueba de Ji-cuadrada (Wayne, 2002).

## 6. RESULTADOS

En el Cuadro 1 se muestran los Odd Ratios para los efectos principales sobre la respuesta estral. Basado en la probabilidad el riesgo relativo para la presentación del estro, la respuesta estral fue mayor en las vacas que recibieron progesterona con un Odd Ratio de 1.61 con una  $P= 0.002$ . La paridad (primíparas vs multíparas) y la producción de leche ( $\leq 40$  kg vs  $>40$  kg) no tuvo efecto en la respuesta estral. Se encontró un efecto de la interacción entre la paridad y el tratamiento sobre la respuesta estral ( $P= 0.04$ ; Cuadro 4). No se observó interacción entre el tratamiento y la producción de leche ( $P= 0.39$ ).

Cuadro 1. Los Odd Ratios para la probabilidad de presentación del estro dependiente el tratamiento (progesterona vs. testigo), paridad (primíparas vs. multíparas) y producción de leche ( $\leq 40$  vs.  $>40$  kg).

Variables	Clases	N	Porcentaje de vacas en estro	Odd Ratios	Intervalo de Confianza a 95%	P
Tratamiento	P4	285/387	73.6	1.61	1.18-2.18	0.002
	Testigo	251/396	63.4	Ref		
No. de partos	Primíparas	183/261	70.1	1.11	0.80-1.54	0.53
	Multíparas	353/522	67.6	Ref		
Producción de leche (kg)	$\leq 40$	248/361	68.7	1.01	0.74-1.37	0.92
	$>40$	288/422	68.2	Ref		

No. de partos\*Tratamiento ( $P= 0.04$ ); Tratamiento\*Producción de leche ( $P= 0.39$ )

En el Cuadro 2 se muestran los Odd Ratios para la probabilidad de gestación después del servicio en el estro sincronizado. Las vacas primíparas tuvieron un Odd Ratio de 1.41 con mayor probabilidad de gestación respecto a las multíparas (P=0.03). El tratamiento con progesterona no afectó el porcentaje de concepción (P=0.12). La producción de leche ( $\leq 40$  kg vs  $>40$  kg) no tuvo efecto (P=0.65). Se encontró un efecto de la interacción entre el número de partos y el tratamiento (P= 0.00) sobre el porcentaje de concepción. Así, el tratamiento con progesterona incrementó la proporción de vacas gestantes en las vacas multíparas pero no en las primíparas (Cuadro 4). No se observó interacción entre el tratamiento y la producción de leche (P= 0.67).

Cuadro 2. Los Odd Ratios para la probabilidad de gestación dependiente del tratamiento (progesterona vs testigo), paridad (primíparas vs  $\geq$  multíparas) y producción de leche ( $\leq 40$  vs  $>40$  kg).

<b>VARIABLES</b>	<b>CLASES</b>	<b>n</b>	<b>Porcentaje de Concepción</b>	<b>Odd Ratios</b>	<b>Intervalo de Confianza 95%</b>	<b>P</b>
Tratamiento	P4	78/285	27.3	1.53 <sup>b</sup>	1.05-2.23	0.12
	Testigo	56/251	22.3	Ref		
No. de partos	Primíparas	54/183	29.5	1.41	0.44-0.95	0.03
	Multíparas	80/357	22.4	Ref		
Producción de leche (kg)	$40 \leq$	67/248	27.0	1.18	0.81-1.72	0.65
	$40 >$	67/288	23.3	Ref		

P\*Tratamiento (P=0.00). Número de partos\*Producción de leche (P=0.67)

En el Cuadro 3 se muestran los Odd Ratios para la probabilidad de gestación acumulada en el día 90 posparto. El tratamiento con progesterona no afectó en forma global la proporción de vacas gestantes en el día 90 posparto (P=0.55). La paridad (primíparas vs multíparas) afectó la proporción de vacas gestantes en el día 90 posparto (P=0.055). No se observó un efecto de la interacción entre el tratamiento y la producción de leche (P= 0.64), pero sí de la interacción entre el número de partos y el tratamiento (P= 0.04). De esta forma, el tratamiento con progesterona incrementó la proporción de vacas gestantes en el día 90 posparto en las vacas multíparas, pero no en las primíparas (Cuadro 4). En cuadro número 4 se muestran los porcentajes de las combinaciones de las variables significativas.

Cuadro 3. Odd Ratios para la probabilidad de gestación en el día 90 posparto dependiente del tratamiento (progesterona vs testigo), número de parto (primíparas vs  $\geq$  multíparas) y producción de leche ( $\leq 40$  vs  $>40$  kg).

<b>VARIABLES</b>	<b>CLASES</b>	<b>n</b>	<b>Tasa de gestación (día 90 posparto)</b>	<b>Odd Ratios</b>	<b>Intervalo de Confianza 95%</b>	<b>P</b>
Tratamiento	P4	226/387	58.3	1.22	0.92-1.63	0.55
	Testigo	211/396	53.2	Ref		
No. de partos	Primíparas	159/261	60.9	1.34	0.99-1.82	0.055
	Multíparas	278/522	53.2	Ref		
Producción de leche (kg)	$40 \leq$	210/361	58.2	1.16	0.87-1.55	0.54
	$40 >$	227/422	53.8	Ref		

No. de partos\*Tratamiento (P=0.04). Producción de leche\*Tratamiento (P=0.64).

Cuadro 4. Respuesta estral, porcentaje de concepción y tasa de gestación de la interacción del tratamiento por número de partos (P=0.04).

Partos	Tratamiento	Estro	Porcentaje de concepción	Tasa de gestación 90 días posparto
Multíparas	Control	161 / 267 60% <sup>a</sup>	27 / 161 17 <sup>a</sup>	129 / 267 48 <sup>a</sup>
	P4	192 / 255 75% <sup>b</sup>	53 / 192 28 <sup>b</sup>	149 / 255 58 <sup>b</sup>
Primíparas	Control	90 / 129 70% <sup>b</sup>	29 / 90 32 <sup>b</sup>	82 / 129 63 <sup>b</sup>
	P4	93 / 132 70% <sup>b</sup>	25 / 93 27 <sup>b</sup>	77 / 132 58 <sup>b</sup>

Las concentraciones de progesterona fueron mayores en las vacas que recibieron progesterona por vía intramuscular más un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (Figura 1). La concentración máxima de progesterona se observó dos días después de la inyección de la hormona. La incidencia de partos gemelares disminuyó (P=0.07) en las vacas tratadas con progesterona (1/74; 1%) vs las testigos (4/ 53; 7%).

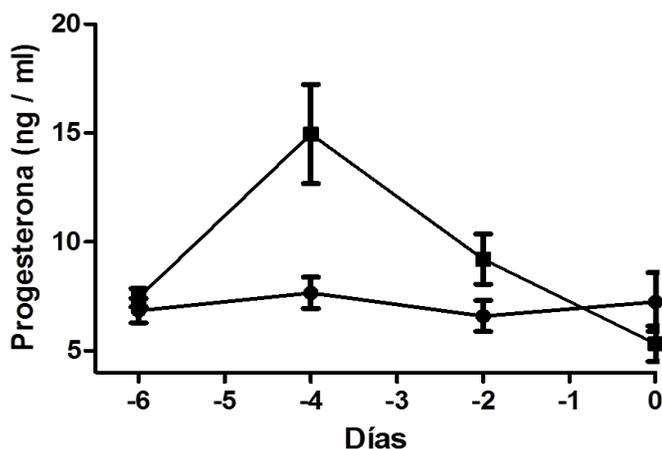


Figura 1. Concentraciones séricas de progesterona en vacas tratadas con 500 mg de progesterona (-■-) por vía intramuscular más un dispositivo intrauterino liberador de progesterona 6 días antes de inyección de prostaglandina, y testigos (-●-).

## 7. DISCUSIÓN

El incremento de las concentraciones séricas de progesterona antes de la administración de la PGF2 $\alpha$  aumentó la respuesta estral, incrementó del porcentaje de concepción y la proporción de vacas gestantes en el día 90 posparto en vacas multíparas, pero no en primíparas.

El aumento de la proporción de vacas que mostraron estro, en las vacas que recibieron progesterona es similar al observado por Xu *et al.*, (1997) con ganado lechero en pastoreo. El mecanismo por el cual aumenta la proporción de vacas detectadas en estro no está claro, sin embargo, es posible que esté relacionado con las características de folículo ovulatorio. Así, la atresia folicular inducida por el incremento agudo de las concentraciones séricas de progesterona y el desarrollo de una nueva oleada folicular podría originar el crecimiento de un folículo ovulatorio con mayor secreción de estradiol (Wiltbank *et al.*, 2011). Dicha condición se ha observado en los programas de sincronización que involucran la sincronización de la oleada folicular, en los cuales también se observa un incremento en la proporción de las vacas detectadas en estro (Patterson *et al.*, 2003).

Por otro lado, las vacas en lactación que muestran menores concentraciones séricas de progesterona en el ciclo estral previo, tienen un folículo ovulatorio de mayor diámetro y muestran un estro más corto en comparación con las vacas que tuvieron concentraciones más altas de progesterona (Wiltbank *et al.*, 2006), lo cual pudo contribuir, también, en la menor eficiencia en la detección de estros observada, en el presente estudio, en las vacas que no recibieron progesterona.

Aunque en el presente trabajo no se determinaron los cambios en la dinámica folicular, en otros estudios se ha observado que el tratamiento agudo con progesterona o norgestomet provoca la atresia del folículo dominante y el surgimiento de una nueva oleada folicular. Anderson y Day en 1994 lograron recambio folicular utilizando 200mg de progesterona administrada por vía intramuscular; *Mata et al.*, (2001) utilizando 3 mg de norgestomet por vía intramuscular provocaron recambio folicular en 50% de las vacas tratadas. Con base en los estudios citados, es muy probable que el incremento agudo de las concentraciones séricas de progesterona que se observó en este trabajo después de la inyección intramuscular de 500 mg de esta hormona, haya ocasionado la sincronización de la oleada folicular.

El tratamiento con progesterona incrementó el porcentaje de concepción y la proporción de vacas gestantes en el día 90 posparto. Este resultado coincide con lo observado por *Wiltbank et al.*, (2011), quien encontró que el incremento de las concentraciones séricas de progesterona antes de la sincronización de la ovulación aumentó el porcentaje de concepción, disminuyó las pérdidas de gestaciones entre el día 29 al 57 posinseminación y redujo la incidencia de ovulación múltiple en vacas Holstien. Sin embargo, en el presente estudio es novedoso el incremento del porcentaje de concepción y de la proporción de vacas gestantes en el día 90 posparto sólo en las vacas multíparas y no en las primíparas.

El mejoramiento de fertilidad observado en las vacas que tuvieron mayores concentraciones de progesterona antes del servicio puede estar asociado con los cambios en la dinámica folicular. Las concentraciones subnormales de progesterona durante la fase del desarrollo folicular incrementan la frecuencia de secreción de los pulsos de LH, la tasa de crecimiento

del folículo ovulatorio y el periodo de dominancia folicular; reduce, además, la concentración intrafolicular de IGF-I y puede afectar el desarrollo embrionario temprano (Cerri *et al.* 2011a, 2011b; Rivera *et al.* 2001). Un alargamiento del periodo de dominancia folicular, ocasionado por bajas concentraciones de progesterona, induce la reactivación de la meiosis antes del pico preovulatorio de LH (Revah and Butler, 1996). Asimismo, la calidad del folículo y del ovocito disminuyen por la exposición del folículo ovulatorio a una frecuencia alta de los pulsos de secreción de LH (Wiltbank *et al.*, 2011). Estos cambios en conjunto disminuyen el porcentaje de concepción.

Las vacas del grupo testigo venían de un programa de presincronización, es decir, recibieron inyecciones sistemáticas de PGF2 $\alpha$  cada 14 días a partir de los días 35 posparto; de esta forma, la mayor parte de ellas estaba en diestro temprano o medio cuando recibieron la inyección de la PGF2 $\alpha$  previa a la inseminación. Se ha observado que la sincronización con doble inyección de PGF2 $\alpha$  reduce el porcentaje de concepción en el estro sincronizado (Cerri *et al.*, 2009<sup>a</sup>, Wiltbank *et al.*, 2011, Xu *et al.*, 2011). Es posible que los menores niveles de progesterona durante el diestro temprano o medio en los programas de doble inyección de PGF2 $\alpha$  sean responsables de esa baja fertilidad (Cerri *et al.*, 2009<sup>a</sup>; Wiltbank *et al.*, 2011). Estas observaciones pueden estar relacionadas con el ambiente hormonal en el cual se desarrolló el folículo ovulatorio. Se ha observado que las vacas que ovulan el folículo de la primera oleada folicular son menos fértiles que las vacas que ovulan el folículo de la segunda oleada folicular (Díaz *et al.*, 1998). Así, el folículo de la primera oleada crece en un ambiente con concentraciones bajas de progesterona mientras que los folículos dominantes de las subsiguientes oleadas foliculares se desarrollan en un ambiente

con concentraciones más altas de progesterona (Díaz *et al.*, 1998; Wiltbank *et al.*, 2011). Lo anterior puede contribuir con la baja fertilidad del estro sincronizado con inyecciones repetidas de PGF2 $\alpha$  observado en las vacas lecheras en manejo intensivo (Denicol *et al.* 2012). En el presente trabajo, las vacas de ambos grupos recibieron inyecciones de PGF2 $\alpha$  cada 14 días; así es posible que la disminución de la fertilidad asociada con los tratamientos sistemáticos de PGF2 $\alpha$  pudo ser subsanada por el tratamiento con progesterona (Xu *et al.*, 2011; Wiltbank *et al.*, 2011).

En el presente trabajo, el efecto del tratamiento fue favorable en el porcentaje de concepción y en el porcentaje de vacas gestantes en el día 90 posparto sólo en vacas multíparas, pero no en primíparas. Además, las vacas primíparas tendieron a ser más fértiles que las multíparas. La baja fertilidad de las vacas multíparas puede estar relacionada con la mayor producción y consumo de materia seca aunado esto a la alta metabolización y conjugación de progesterona para su eliminación, así como un BEN más pronunciado que tiene este grupo de vacas en comparación con las primíparas (Villa-Godoy *et al.*, 1988; Sangsritavong *et al.*, 2002; Vasconcelos *et al.*, 2003; Berry *et al.*, 2006). De esta forma, las vacas multíparas estarían más expuestas a los efectos negativos de las concentraciones subnormales de progesterona provocadas por el elevado metabolismo hepáticos que tienen las vacas que producen más leche y consumen más materia seca (Sangsritavong *et al.*, 2002). Un dato que coincide con esta interpretación es lo observado en vacas multíparas (Wiltbank *et al.*, 2006), las cuales tienen mayor incidencia de partos gemelares que las primíparas, lo que hace suponer que también tienen mayor incidencia de ovulaciones múltiples. Lo anterior, estaría ocasionando no solamente mayor frecuencia de partos asistidos sino también mayor incidencia de pérdidas de gestaciones, debido a que las vacas

con doble embrión tienen mayor riesgo de perder la gestación (Andreu-Vázquez *et al.*, 2012; López-Gatius *et al.*, 2005).

La explicación del porqué el efecto favorable de la administración de progesterona en las vacas multíparas, pero no en las primíparas no se puede construir a partir de las observaciones de este trabajo; sin embargo, puede estar relacionada con las diferencias entre estos grupos de vacas presentadas en el párrafo anterior. Es posible, entonces, que las vacas de más de un parto estén expuestas a más factores que disminuyen la fertilidad, como lo pueden ser el aumento del inicio de la actividad ovárica (Sallas, 1998; Lara, 2002), un nadir muy pronunciado de balance energético negativo (Villa-Godoy *et al.*, 1988; Butler, 1998), los efectos negativos producidos por el estrés calórico en los meses de intenso calor (Lozano, 2004; Aréchiga, 2000) o el inadecuado manejo del ganado en consecuencia a un aumento de número de vacas por hato que ha derivado en una baja eficiencia en detección de celos y el diagnóstico oportuno de enfermedades del puerperio (Urzúa, 2010).

La producción de leche no afectó la respuesta estral y no se observó un efecto de la interacción entre el tratamiento con la producción de leche en la presentación del estro. Al agrupar a las vacas de acuerdo con su producción (Cuadro 1), se encontró en forma global que 68% de ellas se observó en estro, lo cual representa casi la totalidad de las vacas que estarían ciclando, ya que es frecuente que en entre los días 60 y 70 posparto hasta 20% de las vacas están en anestro (Hernández y Gutiérrez, 2007). Este dato es interesante, ya que en los sistemas modernos de manejo reproductivo se da como un hecho que las vacas lecheras con alta producción muestran un estro débil, difícil de observar y por lo tanto se sugiere reiteradamente que el mejor método para inseminarlas es la utilización de

protocolos hormonales para servirles a tiempo fijo (Wiltbank *et al.*, 2011; Cerri *et al.* 2011<sup>b</sup>; Lucy, 2007) En el presente estudio la detección de calores se realizó observando durante dos horas por la mañana y dos horas por la tarde (6:00 a 8:00 y 17:00 a 19:00 pm), además se pusieron parches detectores de monta (Estrotec ®) y se utilizaron podómetros para el registro de la actividad locomotora. Esto demuestra que no obstante los factores que disminuyen la eficiencia en la detección de estros en las vacas en sistemas intensivos de manejo, todavía es posible alcanzar una aceptable eficiencia en la detección de calores (en este caso por encima del 60%) basándose en métodos convencionales; cabe señalar que la proporción de vacas detectadas en calor en los hatos comerciales es de 50% (Lucy *et al.*, 2001).

La producción de leche tampoco afectó el porcentaje de concepción ni el porcentaje de vacas gestantes en el día 90 posparto; además, no se observó una interacción entre el tratamiento con la producción de leche en la fertilidad. Este resultado muestra que si bien hay una asociación entre el incremento de la producción de leche y la disminución de la fertilidad en los últimos 30 años (Lucy *et al.*, 2001), no necesariamente las vacas que producen más leche son menos fértiles. López Gatiús *et al.*, (2006) encontraron que las vacas que produjeron más leche (>50 kg) en el día 50 posparto fueron más fértiles. Aunque en el presente estudio no se encontró un resultado similar al citado, no se observó una disminución de la fertilidad en las vacas que produjeron más leche en comparación con las menos productoras.

La incidencia de partos gemelares fue menor ( $P=0.07$ ) en las vacas tratadas con progesterona que en las testigo. Este resultado coincide con lo observado por Wiltbank *et*

*al.*, (2006) en donde las vacas con concentraciones de progesterona más altas tuvieron menor incidencia de ovulación múltiple en comparación con las vacas con menores concentraciones de progesterona. La causa de la ovulación múltiple no es clara; sin embargo, se ha propuesto que las bajas concentraciones de progesterona permiten un incremento de la frecuencia de secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y en consecuencia de LH y FSH, lo cual favorece la dominancia múltiple y eventualmente la ovulación de más de un folículo (Lopez Gatius *et al.*, 2005). Cabe señalar que en los hatos lecheros las gestaciones gemelares no son deseables porque aumenta el riesgo de pérdida de la gestación y, si ésta llega a término, el riesgo de distocia es alto (Fricke y Wiltbank, 1999; Wiltbank, *et al* 2006)

Se concluye que en este estudio la administración de progesterona antes de la sincronización del estro con PGF2 $\alpha$  en vacas de primer servicio mejoró la respuesta estral, incrementó el porcentaje de concepción y la proporción de animales gestantes en el día 90 posparto en vacas multíparas, pero no en las primíparas; y redució la incidencia de partos gemelares.

## 8. CONCLUSIONES

La aplicación de progesterona 6 días antes de la sincronización del estro con  $\text{PGF2}\alpha$  incrementó los niveles sanguíneos de esta hormona.

Existe una interacción entre el aumento de la concentración sérica de progesterona 6 días antes de la sincronización del estro con  $\text{PGF2}\alpha$  y el número de partos que derivó en un mejoramiento en la fertilidad de la vacas multíparas

Bajo las condiciones del presente estudio el incremento de la concentración sérica de progesterona 6 días antes de la sincronización del celo con  $\text{PGF2}\alpha$  se mejoró la respuesta estral, el porcentaje de concepción al primer servicio, la proporción de vacas gestantes en el día 90 pos parto en vacas multíparas pero no en las primíparas y se disminuyó el número de partos gemelares.

Para estudios posteriores se sugiere incluir el uso de la ultrasonografía con la finalidad de poder determinar el efecto de la progesterona sobre la dinámica folicular y la disminución de la incidencia de ovulaciones múltiples en el ganado lechero Holstein.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

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

Albhin A, Gustafsson H, Hurst M, Rodriguez-Marinez H. Embryonic ability to prolong the interoestrous interval in virgin and repeat breeder heifers. *Anim Reprod Sci* 1991; 26:193-210.

Anderson LH, Day ML. Acute progesterone administration regresses persistent dominant follicles and improves fertility of cattle in which estrus was synchronized with melengestrol acetate. *J Anim Sci* 1994; 72: 2955-2961.

Andreu-Vázquez C, Garcia-Ispierto I, López-Gatius F. Manual rupture versus transvaginal ultrasound-guided aspiration of allanto-amniotic fluid in multiple pregnancies: a clinical approach to embryo reduction in dairy cattle. *J Reprod Dev* 2012;58(4):420-424.

Aréchiga CF, Ortiz O, Hansen PJ. Effect of parturition injection of vitamin E and selenium on postpartum reproductive function of dairy cattle. *Theriogenology* 1994; 41: 1251-1258.

Aréchiga FCF, Vázquez FS, Ortiz O, Hernández CJ, Porras A, McDowell LR, Hansen PJ. Effect of injection of B-carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology* 1998;50:65-76.

Aréchiga FCF. Efecto de los antioxidantes y su uso potencial en incrementar la eficiencia reproductiva del Ganado bovino. *Memorias del VIII Curso de Reproducción Bovina*; mayo 24-27, 1999. México, (DF): Universidad Nacional Autónoma de México, División de educación continua: 155-179, 1999.

Aréchiga FCF. Efectos adversos del estrés calórico en la reproducción del ganado bovino. En Hernández CJ Editor. *Mejoramiento Animal: Reproducción*. México (DF). Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 2000:135-150.

Ball PJH, Peters AR. Reproductive Problems. *Reproduction in Cattle*. Oxford, UK: Blackwell Pub 2004:172-175.

Bartlett PC, Ngetegize Pk, Kancene JB, Kirk JH, Anderson SM, Mather EC. Cystic follicular disease in Michigan Holstein-Friesian cattle: incidence, descriptive epidemiology and economic impact. *Prev Vet Med* 1986;4:15-33.

Bauman DE. Bovine somatotropine: Review of an emerging animal technology. *J Dairy Sci* 1992;75:3432-3451.

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

Bell A, Rodríguez OA, de Castro e Paula LA, Padua MB, Hernández CJ, Gutiérrez CG, De Vries A, Hansen PJ. Pregnancy success of lactating Holstein cows after a single administration of a sustained-release formulation of recombinant bovine somatotropin. *BMC Veterinary Research* 2008;4:22.

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 $\beta$ -estradiol in bovine females. *Biol Reprod* 1996; 54: 546-553.

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.

Bisinotto RSB, Chebel RC, Santos JEP. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. *J Dairy Sci* 2010; 93: 3578-3587.

Boland MP, Lonergan P, O'Callagan DO. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology* 2001; 11:93-104.

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

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 WR. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science* 2003;83:211-218.

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

Canfield RW, Butler WR. Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Domest Anim Endocrinol* 1990;7:323-330.

Casida LE, Mc Shan WH, Meyer RK. Effects of an unfractionated pituitary extract upon cystic ovaries and nymphomania in cows. *J Anim Sci* 1944;3:273-282.

Cerri R, Rutigliano HM, Chebel RC, Santos JEP. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. *Reproduction* 2009; 137:813-823.

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

Cerri RL., Chebel RC, Rivera F, Narciso CD, Oliveira RA, Amstalden M, Baez-Sandoval GM, Oliveira LJ, Thatcher WW, Santos J E. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: II. Ovarian and uterine responses. *J Dairy Sci* 2011b; 94:3352-3365.

Chebel RC, Santos JEP, Reynolds JP, Cerri RLA, Juchem SO, Sergio OJ, Overton M. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2004;84:239-255.

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

Denicol AC, Mendonça LGD, Lopes G Jr, Rivera FA, Guagnini F, Lima JR, Santos JEP, Bruno RGS, Perez RV, Chebel RC. Low progesterone concentration during the development of the first follicular wave reduces pregnancy per insemination of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2012; 95:1794-806.

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.

Dohoo I, Martin W, Stryhn H. *Veterinary Epidemiology Research*. 2a ed. Canada: University of Prince Edward Island, 2003.

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.

Edwards JL, Hansen PJ. Differential responses of bovine oocytes and preimplantation embryos to heat shock. *Mol Reprod Dev* 1997; 46:138-145.

Flores S, Alcántara S, Rojas S, Bautista B, Martínez E, Benítez S, Hernández CJ. Evaluación reproductiva y económica del diagnóstico precoz de la gestación en ganado lechero mediante la medición de la glicoproteína asociada a la gestación (PAG). Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Buiatría; 2012 Agosto 2 - 4. Mérida (Yucatán) México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos AC.

Fonseca FA, Britt JH, McDaniel BT, Wilk JC, Rakes AH. Reproductive traits of Holsteins and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. *J Dairy Sci* 1983; 66:1128-1147.

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

Fricke PM, Wiltbank MC. Effect of milk production on the incidence of double ovulation in dairy cows. *Theriogenology* 1999; 52:1133-1 143.

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

Garm O. A study of bovine nymphomania. *Acta Endocrinol* 1949;3(Suppl. 3):1.

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

Garverick HA. Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J Dairy Sci* 1997;80(5):995-1004.

Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN, Frajblat M. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 2005;64:1879-1888.

Gröhn YT, Eicker SW, Ducrocq V, Hertl JA. Effect of diseases on the culling of Holstein dairy cows in New York State. *J Dairy Sci* 1997;81:966–978.

Gröhn YT, Rajala-Schultz P.J. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2000; 60-61: 605 – 614.

Gröhn YT, Rajala SPJ. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2001;60-61:605-614.

Hafez E. S. E. Hafez B. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7a ed. México: Editorial Mc Graw Hill Interamericana, 2004.

Hansen TR, Austin KJ, Perry DJ, Pru JK, Teixeira MG, Johnson GA: Mechanism of action of interferón-tau in the uterus during early pregnancy. *J Reprod Fertil* 1999; 54 (Suppl):329-339.

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

Hernández CJ, Porras AA, Benítez S. Eficiencia de la detección de estros y niveles de progesterona al momento de la inseminación de vacas Holstein. *Av en Inv Agropecuaria* 1994;3:12-17.

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

Hernández CJ, Jousan F D, Soto P, Hansen PJ. Timing of Inhibitory Actions of Gossypol on Cultured Bovine Embryos. *J Dairy Sci* 2005;88:922-928.

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. Fisiología clínica de la reproducción de bovinos Lecheros. México. Pfizer Salud Animal, 2012.

Hooijer GA, Van Oijen MAAJ, Frankena K, Valks MMH. Fertility parameters of dairy cows with cystic ovarian disease after treatment with gonadotropin-releasing hormone. *Veterinary Record* 2001;149:383-386.

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

Kadzere CT, Murphy MR, Silanikove N and Maltz E. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock Production Science* 2002;77: 59-91.

Kasari R, Fuller DT, Wideman D, Jaques JT, Slay L, Lee J. Bovine COD and the role norgestomet can play in its treatment. *Veterinary Medicine* 1996;1:156-162.

Kerbler JL, Buhr MM, Jordan LT, Leslie KE, Walton JS. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon – tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology* 1997; 47: 703-714.

Kesler DJ, Garverick HA. Ovarian cysts in dairy cattle: A review. *J Anim Sci* 1982;55:1147-1159.

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.

Lara V, Hernández CJ, Cruz O, Ortiz O, Gutiérrez CG. Inicio de la actividad ovárica posparto y características de la función lútea de vacas Holstein. *Memorias del XXVI Congreso Nacional de Buiatría; 2002 Julio 11-13. Acapulco (Guerrero) México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos AC.*

Lefebvre DM, Block E. Effect of recombinant bovine somatotropin on estradiol-induced estrous behavior in ovariectomized heifers. *J Dairy Sci* 1992; 75:1461-1464.

Lima JR, Rivera FA, Narciso CD, Oliveira R, Chebel RC and Santos JEP. Effect of increasing amounts of supplemental progesterone in a timed artificial insemination protocol on fertility of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2009; 92:5436-5446.

Logergan P. Advances in bovine reproduction and embryo technology. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. *Theriogenology* 2011: 1594-1601.

Lopez DMC, Bosu WTK. A review and an update of cystic ovarian degeneration in ruminants. *Theriogenology* 1992;37:1163-1183.

Lopez H, Sartori R, Wiltbank MC. Reproductive hormones and follicular growth during development of one or multiple dominant follicles in cattle. *Biol Reprod* 2005; 72:788-795.

López-Gatius F, Santolaria P, Yániz J, Fenech M, López BM. Risk factors for postpartum ovarian cysts and their spontaneous recovery or persistence in lactating dairy cows. *Theriogenology* 2002;58(8):1623-1632.

Lopez-Gatius F, Santolaria P, Yániz JL, Garbayo JM, Hunter RHF. Timing of early foetal loss for single and twin pregnancies in dairy cattle. *Reprod Domest Anim* 2004;39:429–433.

López-Gatius F, Santolaria P, Mundet I, Yániz JL. Walking activity at estrus and subsequent fertility in dairy cows. *Theriogenology* 2005;63:1419–29.

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* 2006;65:1678-1689.

Lozano DR. Efecto del estrés calórico sobre el desarrollo folicular, el desarrollo y calidad del embrión y función lútea en vacas Holstein. Tesis de doctorado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 2004.

Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota R.L. Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Anim Sci* 1992; 70: 3615-3626.

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 postpartum 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. 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, Taufa VK, Day AM. Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone (buserelin) in cattle. III. Pregnancy rates after a post-insemination injection during metoestrus or dioestrus. *Anim Reprod Sci* 1986; 11:1-10.

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

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

Mann GE, Lamming GE. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reprod Domest Anim* 1999;34:269-174.

Mann GE, Lamming GE. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 2001;121:175-18.

Mata CFA, Hernández CJ, González PE. Efecto de norgestomet inyectado sobre los folículos dominantes persistentes y la formación del cuerpo lúteo en vacas sincronizadas con implantes de norgestomet. *Vet Méx* 2001;32:19-25.

McDougall S, Macaulay R, Compton C. Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci* 2007; 99: 9-23.

Mihm M, Baguisi A, Boland MP, Roche JF. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *J of Reproduction and Fertility* 1994;97:197-203.

Morales RS, Hernández CJ, Rodríguez TG, Peña FR. Comparación del porcentaje de concepción y la función lútea en vacas de primer servicio, vacas repetidoras y vaquillas Holstein. *Vet Méx* 2000;31:179-184.

Morgan WF, Lean IJ. Gonadotrophin-releasing hormone treatment in cattle: a meta-analysis of the effects on conception at the time of insemination. *Austr Vet J* 1993; 70:205-209.

Nockels ChF. Antioxidants improve cattle immunity following. *Anim Feed Tech* 1996;62:59-68.

Opsomer G, Coryn M, Deluyker H, de Kruif A. An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesterone profiles. *Reprod Domest Anim* 1998;33:193-204.

Ortega A. Efecto de la administración oral de glicerol en el desarrollo embrionario y fertilidad de vacas Holstein (Tesis de Maestría). DF. México: Universidad Nacional Autónoma de México. 2006.

Patterson D J, Kojima FN, Smith MF. A review of methods to synchronize estrus in replacement beef heifers and postpartum cows. *J Anim Sci* 2003; 81:166-177.

Pesantéz JL, Ortiz O, Hernández CJ. Factores asociados con la incidencia de quistes foliculares en vacas lecheras altas productoras. *Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Buiatría; 2012 Agosto 2-4. Yucatán (Mérida) México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos AC.*

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

Peter AT. An update on cystic ovarian degeneration in cattle. *Reprod Domest Anim* 2004;39:1-7.

Plaizer JC, Krause DO, Gozho GN, McBride BW. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *The Vet J* 2009; 176:21-31.

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

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

Putney DJ, Drost M, Thatcher WW. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperature between days 1 to 7 post insemination. *Theriogenology* 1998;30: 195-209.

Revah I, Butler WR. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *Journal of Reproduction and Fertility* 1996;106 339-347

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

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

Rodríguez COA, Bolaños DR, Ortiz GO, Gutiérrez CG, Montaldo HH, García OC, Hernández CJ. Porcentaje de concepción al primer servicio en vacas Holstein tratadas con hormona bovina del crecimiento en la inseminación. *Vet Mex* 2009; 40 (1): 1-7.

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

Salas G. Reinicio de la actividad ovárica posparto en vacas Holstein bajo sistemas de producción en pequeña escala (tesis de maestría). Morelia (Michoacan) México: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 1998.

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

Santos JEP, Villaseñor M, Robinson PH, DePeters EJ; Holmberg CA. Type of cottonseed and level of gossypol in diets of lactating dairy cows: Plasma gossypol, health, and reproductive performance. *J Dairy Sci* 2003; 86: 892-905.

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

Savio J, Tatcher WW, Badinga L, De la Sota RL, Wolfenson D. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. *J. Reproduction and Fertility* 1993; 97:197-203.

Shaham-Albalancy A, Nyska A, Kaim M, Rosemberg M, Folman Y, Wolfenson D. Delayed effect of progesterone on endometrial morphology in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 1997;48: 159–174.

Shaham-Albalancy A, Folman Y, Kaim M, Rosemberg M, Wolfenson D. Delayed effect of low progesterone concentrations on bovine uterine PGF(2 $\alpha$ ) secretion in the subsequent estrous cycle. *Reproduction* 2001; 122:643–648.

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: 1-9.

Sianangama PC, Rajamahendran R. Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding milk progesterone and pregnancy in cows. *Theriogenology* 1992; 38:85-96.

Spencer TE, Burghardt RC, Johnson GA, Bazer FW. Conceptus signal for establishment and maintenance of pregnancy. *Anim Reprod Sci* 2004;82-83:537-550.

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

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 2009*. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos.

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, Meyer MD, Danet-Desnoyer G. Maternal recognition of pregnancy. *J Reprod Fertil* 1995; 49: (Suppl):15-28.

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; 55:75-89.

Trimberger GW. Breeding efficiency in dairy cattle from artificial insemination at various intervals before and after ovulation. *Nebraska Agric Exp Stn Bull* 1948;153:3.

Urzúa E. Efecto de la aplicación de gonadotropina coriónica humana en el día 5 posinseminación en la función lútea y porcentaje de concepción en vacas lecheras. (Tesis de Maestría). DF, México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2010.

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

Vasconcelos JLM, Sangsritavong SJ, 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 TL, Fogwell RL. Association between energy balance and luteal function in dairy cows. *J Dairy Sci* 1988;71:1063-1072.

Wald, A. Sobre los principios de la inferencia estadística. *Trabajos de estadística* 1951; 2(2): 113-148.

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

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

Wiltbank M, Lopez H, Sartori R, Sangsritavong S, Gümen A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 2006; 65(1):17-29.

Wiltbank MC, Sartori R, Herlihy MM, Vasconcelos JLM, Nascimento AA, Sousa AH, Ayres H, Cunha AP, Keskin A, Guenther JN, Gümen A. Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. *Sci Verse Scienedirect* 2011; 76: 1568-1582.

Wiltbank CM, Souza AH, Carvalho PD, Bender RW, Nascimento AB. Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating daire cattle. *Reproduction, Fertility and Development* 2012; 24: 238-243.

Wiltbank CM, Pursley JR. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology* 2014: 81;170-185.

Wolfenson D, Roth Z, Meidan R. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim Reprod Sci* 2000;60-61:535-547.

Xu ZZ, Burton LJ, Macmillan KL. Reproductive performance of lactating dairy cows following Estrus synchronization regimens with PGF2a and progesterone. *Theriogenology* 47:667-701, 1997.

Zarco QL, 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.

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