

01669 25⁶



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

144
88

EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (rbST) LOS DIAS 3 Y 17 POSTINSEMINACION SOBRE LA FERTILIDAD Y LA FUNCION DEL CUERPO LUTEO EN VACAS HOLSTEIN DE PRIMER SERVICIO Y REPETIDORAS

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL
PRESENTADA POR EL
MVZ GUSTAVO RAUL RODRIGUEZ TREJO

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOEL HERNANDEZ CERON

MEXICO, D. F.

1999.

TESIS CON

CLASIFICACION





Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

CONTENIDO.

RESUMEN	IV
SUMMARY	V
CONTENIDO	VI
ÍNDICE DE CUADROS	VII
INTRODUCCIÓN	1
MATERIAL Y MÉTODOS	6
RESULTADOS	9
DISCUSIÓN	13
CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES	22
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
CUADROS Y FIGURAS	35

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS.

1. HOMOGENEIDAD ENTRE GRUPOS DE VACAS TRATADAS CON rbST Y NO TRATADAS, DE PRIMER SERVICIO Y REPETIDORAS.
2. ÍNDICE DE PREÑEZ DE LAS VACAS TRATADAS CON rbST Y DE LAS NO TRATADAS, DE PRIMER SERVICIO, REPETIDORAS Y TOTAL POR TRATAMIENTO.
3. ÍNDICE DE PREÑEZ DE LAS VACAS TRATADAS CON rbST Y DE LAS NO TRATADAS, PRIMÍPARAS Y MULTÍPARAS.
4. ÍNDICE DE PREÑEZ DE LAS VACAS TRATADAS CON rbST Y DE LAS NO TRATADAS, SEGÚN SUS DÍAS AL PRIMER ESTRO POSPARTO.
5. ÍNDICE DE PREÑEZ DE LAS VACAS TRATADAS CON rbST Y DE LAS NO TRATADAS, SEGÚN SUS DÍAS EN LECHE.
6. FRECUENCIA DE INTERVALOS DE RETORNO AL ESTRO POSTERIOR A LA I.A. DEL PERÍODO ESTUDIADO EN LAS VACAS QUE RESULTARON NO GESTANTES POR GRUPO EXPERIMENTAL.
7. ÁREA BAJO LA CURVA DE PROGESTERONA POR FASES DEL PERÍODO ESTUDIADO DE LAS VACAS: TRATADAS CON rbST Y NO TRATADAS; DE PRIMER SERVICIO Y REPETIDORAS; GESTANTES Y NO GESTANTES. ("GRUPO" como variable independiente).
8. ÁREA BAJO LA CURVA DE PROGESTERONA POR FASES DEL PERÍODO ESTUDIADO PARA LAS INTERACCIONES: TRATAMIENTO*TIPO DE VACA; TRATAMIENTO*RESULTADO DE LA I.A. ("GRUPO" como variable en interacción con el tratamiento).
 - A. CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA PLASMÁTICA EN VACAS TRATADAS CON rbST Y TESTIGO.
 - B. COMPORTAMIENTO DE PROGESTERONA PLASMÁTICA POR TRATAMIENTO Y TIPO DE VACA.

RESUMEN

RODRÍGUEZ TREJO GUSTAVO RAÚL. Efecto de la administración de somatotropina bovina recombinante (rbST) los días 3 y 17 postinseminación sobre la fertilidad y la función del cuerpo lúteo en vacas Holstein de primer servicio y repetidoras. (bajo la dirección del Dr. Joel Hernández Cerón).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la somatotropina bovina recombinante (rbST) sobre la fertilidad y la producción de progesterona del cuerpo lúteo al aplicarse los días 3 y 17 postinseminación, tanto en vacas de primer servicio como repetidoras. En el experimento 1 se comparó el índice de preñez de 223 vacas tratadas con 500 mg de rbST de liberación prolongada por vía subcutánea los días mencionados, contra 279 vacas que no recibieron tratamiento alguno. Ambos grupos incluyeron vacas de primer servicio y repetidoras, clínicamente sanas y que tuvieran una condición corporal entre 2 y 3.5 (en la escala de 1 a 5). En el experimento 2 se comparó el área bajo la curva de progesterona plasmática, obtenido por muestras diarias del día 1 al día 21 postinseminación, de 18 vacas tratadas como en el experimento 1 contra 18 vacas testigo, tanto de primer servicio como repetidoras. Para evaluar el área bajo la curva, el ciclo se dividió en tres fases: fase 1, del día 1 al 10; fase 2, del 11 al 16 y fase 3, del 17 al 21. En el experimento 1 no se encontraron diferencias en los índices de preñez entre las vacas tratadas (41.2%) y las vacas testigo (40.5%) ($P=0.88$), ni bajo la interacción tratamiento*tipo de vaca (primer servicio o repetidora) ($P=0.78$). Las variables días a primer calor, días en leche al ciclo estudiado o paridad, no tuvieron efecto alguno en su interacción con el tratamiento sobre el índice de preñez ($P>0.57$). En el experimento 2, el área bajo la curva de progesterona entre grupos experimentales al comparar las fases 1 y 2 no fue diferente: fase 1: 22.55 ± 2.21 ng/ml (área total \pm e.e.) para el grupo rbST y 22.48 ± 2.14 ng/ml para el testigo ($P=0.90$); fase 2: 35.67 ± 3.28 ng/ml para las vacas tratadas y 39.18 ± 3.17 para las testigo ($P=0.40$). Tampoco existieron diferencias entre vacas de primer servicio y repetidoras ($P>0.65$); ni en la interacción tratamiento*tipo de vaca ($P>0.90$) en estas fases. Así mismo no existió diferencia en el área bajo la curva de las fases 1 y 2 entre las vacas que resultaron gestantes y las que resultaron no gestantes ($P>0.54$), como tampoco la hubo en las tres fases para la interacción tratamiento*resultado de la I.A. ($P>0.10$). Al comparar el área bajo la curva de la fase 3 entre las vacas tratadas y testigo que resultaron vacías, tampoco se halló efecto del tratamiento sobre la producción de progesterona ($P=0.65$). Los resultados mostraron que la rbST, al aplicarse los días 3 y 17 postinseminación, no mejora el índice de preñez ni la función del cuerpo lúteo de vacas de primer servicio o repetidoras.

Palabras clave: INFERTILIDAD, MUERTE EMBRIONARIA, SOMATOTROPINA, PROGESTERONA, BOVINOS LECHEROS.

SUMMARY.

RODRÍGUEZ TREJO GUSTAVO RAÚL. Effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) administration at 3 and 17 days postinsemination on fertility and corpus luteum function in first breeding and repeat-breeder Holstein cows. (under supervision of Dr. Joel Hernández Cerón).

The objective of this study was to evaluate the effect of rbST administration on pregnancy rate and corpus luteum progesterone production as much in first service cows as in repeat-breeder cows when is applied at 3 and 17 days post insemination. In experiment 1, it was compared the pregnancy rate of 223 cows subcutaneously injected with 500 mg of sustained-release rbST in mentioned days, versus 279 non treated cows. Both groups included first service and repeat breeder cows, clinically healthy and from 2 to 3.5 body condition score (1 to 5 scale). In experiment 2, in order to evaluate the effect of rbST on luteal function, 18 treated cows and 18 control cows as much of first service as of repeat-breeder cows were bled daily for 21 days beginning on the day of insemination (day 1), to determine progesterone concentration (area under curve) on three phases of the studied estrous cycle; phase 1: days 1 to 10, phase 2: days 11 to 16 and phase 3: days 17 to 21. In experiment 1 pregnancy rates were not significantly different ($P=0.88$) between treated (41.2%) and control group (40.5%) ($P=0.88$), and neither were they under treatment*sort of cow (first service or repeat breeder cow) interaction ($P=0.78$). Also, when the data were analysed upon grouping according to predetermined values by day to first estrous, lactation days or parity, there was not found any statistics trend under the interaction of these variables with the experimental groups ($P>0.57$). In experiment 2 area under the progesterone curve comparing experimental groups was not significantly different; phase 1: 22.55 ± 2.21 ng/ml (total area \pm e.e.) for the rbST group and 22.48 ± 2.14 ng/ml for the control group ($P=0.90$); phase 2: 35.67 ± 3.28 ng/ml versus 39.18 ± 3.17 ng/ml respectively ($P=0.40$); likewise, there were no differences in these phases between first service and repeat breeder cows ($P>0.65$), under treatment*sort of cow interaction ($P>0.90$), and between pregnant and non pregnant cows ($P>0.54$). Also, area under curve was not different in any of 3 phases under treatment*pregnancy interaction. In phase 3 there was not influence of rbST over progesterone production in cows that resulted non pregnant of experimental groups ($P=0.65$). It was concluded that treatment with rbST at 3 and 17 days postinsemination did not improve the pregnancy rate and corpus luteum function of both first service and repeat breeder cows.

Key words: INFERTILITY, EMBRYONIC DEATH, SOMATOTROPIN, PROGESTERONE, DAIRY CATTLE.

INTRODUCCIÓN.

Los problemas reproductivos son la principal causa de desecho en las explotaciones lecheras intensivas (Bascom y Young, 1998). La infertilidad en los bovinos lecheros bajo explotación intensiva ha sido uno de los mayores problemas de esta industria (Anta *et al.*, 1989). Las vacas que requieren más de tres inseminaciones para quedar gestantes pueden alcanzar el 25% (Torres y Valencia 1995), y en otros casos hasta el 30% de los hatos (Bartlett, 1986).

Los investigadores coinciden en que la mayoría de los ovocitos liberados en las hembras bovinas son fertilizados, sin embargo el índice de preñez es proporcionalmente muy bajo (Ayalon, 1981; Linares, 1982).

La mortalidad embrionaria temprana se ha identificado como la causa más importante de la baja eficiencia reproductiva en el ganado bovino, ocurriendo su mayor parte dentro de los primeros 16 días, por lo cual no se detecta una alteración en la duración del intervalo entre estros (Ayalon, 1978; 1981; Diskin y Sreenan, 1980; Maurer y Chenault, 1983).

Se ha comprobado un retraso en el desarrollo así como una degeneración de los embriones antes de los 7 días de gestación, apreciándose este fenómeno en forma menor en vaquillas vírgenes pero siendo altamente frecuente en vacas y vaquillas repetidoras (Linares, 1982; Gustafsson, 1985; Albhin *et al.*, 1989). Dichos embriones no podrán establecer el mecanismo de reconocimiento materno de la gestación, mediante la secreción adecuada y oportuna de interferón- τ (bINF) (Thatcher *et al.*, 1997), la cual está directamente relacionada con el tamaño del embrión (Geisert *et al.*, 1988; Thatcher *et al.*, 1989, 1994).

Ayalon (1981) clasificó la etiología de la mortalidad embrionaria temprana en dos tipos de causas: genéticas (alteraciones cromosómicas), y ambientales, y entre éstas últimas, causas nutricionales, infecciosas, climáticas, relacionadas con la edad, condiciones al servicio, calidad del semen, medio ambiente uterino y desbalances hormonales.

Es posible que en la mortalidad embrionaria participen conjuntamente varias de las causas mencionadas, algunas de ellas pueden ser identificadas y controladas en las explotaciones lecheras, pero es evidente que la supervivencia de los embriones está relacionada directamente con una interacción entre la dinámica del balance hormonal y la del medio ambiente uterino (Ayalon, 1981; Maurer y Echterkamp, 1982; Thatcher *et al.*, 1994; Almeida, 1995).

Al respecto, Gandolfi (1994) afirma que el desarrollo embrionario es el resultado de delicadas interacciones entre el programa cromosómico de cada cigoto y el aparato genital materno, involucrando en el período inicial de proliferación y diferenciación celular factores autócrinos, en su mayoría factores de crecimiento generados por el embrión para sostener su propio desarrollo, parácrinos, también factores de crecimiento y proteínas específicas producidas por el oviducto y útero, y ambientales, como sustratos energéticos, iones, aminoácidos y vitaminas, los cuales en conjunto establecen el medio adecuado para la viabilidad del embrión.

Otros investigadores han evidenciado la importancia de los factores endócrinos participantes en el concierto de la gestación. Al estudiar el papel de las hormonas ováricas esteroides se han observado diferencias entre el nivel de progesterona plasmático de vacas inseminadas que gestaron y de vacas inseminadas que no gestaron o vacas ciclando sin inseminar (Lukaszewska y Hansel, 1980) y entre vacas normales y repetidoras (Kimura *et al.*, 1987; Shelton *et al.*, 1990). Se ha correlacionado el desarrollo embrionario normal con un pico de hormona luteinizante (LH) más temprano y más alto y con un mayor nivel de progesterona los primeros días después de la inseminación (Maurer y Echterkamp, 1982). Más recientemente Kerbler *et al.* (1997), halló una correlación ($r=0.593$; $P<0.006$) entre la concentración de progesterona en plasma y la producción de interferón- τ (bINF) por el embrión. Thatcher *et al.* (1989) mencionan que los mecanismos que desembocan en una adecuada función y duración de la vida del cuerpo lúteo son críticos para lograr la gestación en el ganado y además que el folículo de donde proviene y el

subsecuente desarrollo del cuerpo lúteo son determinantes para la salud del embrión (Thatcher *et al.*, 1994).

Al intentar incrementar la fertilidad en el ganado bovino suplementando progesterona, se han obtenido resultados poco consistentes. Van Cleeff *et al.* (1989) observaron una reducción significativa en el índice de preñez al aplicar un dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR) los días 1 al 9, y en un experimento posterior, al insertar el dispositivo los días 7 al 13, no encontró diferencia alguna con el grupo testigo (Van Cleeff *et al.*, 1991). No obstante en otro estudio, el dispositivo aplicado en los días 5 a 12 y 10 a 17 postinseminación elevó dramáticamente el índice de gestación en vacas lecheras (Robinson *et al.*, 1989). Se conoce que la progesterona suprime la frecuencia de los pulsos de LH por la hipófisis (Goodman y Karsh 1980; Ireland y Roche, 1982) y la suplementación exógena provoca una reducción de la producción endógena de progesterona (Robinson *et al.*, 1989), estos efectos adversos además de la divergencia de los resultados encontrados, dificultan su uso como herramienta para mejorar la fertilidad.

Por otra parte, ante los hallazgos ya mencionados de un patrón de progesterona más alto en las vacas y vaquillas que logran la gestación en comparación con las que no lo hacen o con las vacas repetidoras, se han intentado tratamientos orientados a mejorar la función del cuerpo lúteo y su consiguiente producción endógena de progesterona, usando, factor liberador de gonadotropinas (GnRH) (Stevenson *et al.*, 1990; Swanson y Young, 1990; Bon Durant *et al.*, 1991) y gonadotropina coriónica humana (hCG) (Eduvie y Seguin, 1982; Swanson y Young, 1990; Walton *et al.*, 1990; Sianangama y Rajamahendran, 1992; Kerbler *et al.*, 1997) aplicándolos en diferentes momentos del ciclo estral y con resultados variables, ya que en algunos estudios se observa un incremento en la concentración de progesterona y/o un mejoramiento de la fertilidad, mientras que en otros no existen.

Recientemente se ha estudiado la hormona de crecimiento bovina recombinante (rbST), comúnmente usada para incrementar la producción de leche (Bauman *et al.*, 1985), como una alternativa para mejorar la fertilidad.

Se ha observado que la hormona del crecimiento estimula la secreción de progesterona del cuerpo lúteo. Las vacas que recibieron rbST durante los primeros 10 días del ciclo mostraron una producción de progesterona significativamente mayor a la de las vacas no tratadas (Lucy *et al.*, 1994a); otros autores también han encontrado este efecto (Shemm *et al.*, 1990; Gallo y Block, 1991). La estimulación de la hormona de crecimiento (ST) sobre la función del cuerpo lúteo puede ser directa, ya que sus células grandes poseen receptores para ella (Tanner y Hausser, 1989; Lucy *et al.*, 1993) y la cantidad de mRNA para los receptores de ST es mayor en el CL que en ningún otro tejido reproductivo (Lucy *et al.*, 1994a; Kirby *et al.*, 1996; Lucy *et al.*, 1998), o bien puede ser mediado por el factor de crecimiento parecido a la insulina-I (IGF-I), el cual incrementa sus concentraciones después de la administración de rbST tanto en la circulación (Staples y Head, 1988; Gallo y Block, 1990; Morbeck *et al.*, 1991; Lucy *et al.*, 1994a, b) como en diferentes tejidos, incluyendo ovario (Davoren y Hsueh 1986; Hsu y Hammond, 1987; Lucy *et al.*, 1995) y útero (Geisert *et al.*, 1991); este factor de crecimiento ha demostrado aumentar la producción de progesterona al añadirlo *in vitro* a células de la granulosa bovinas (Shams *et al.*, 1987; Spicer *et al.*, 1993; Liebermann *et al.*, 1996) y a células lúteas (Sauerwein, *et al.*, 1992; Spicer y Echtenkamp, 1995). Se conoce que el IGF-I y el IGF-II participan en la diferenciación y en el crecimiento del embrión y posiblemente son mediadores de la síntesis de proteínas, particularmente interferón- τ durante el reconocimiento de la gestación (Simmen *et al.*, 1993). Además la ST junto con insulina y sin IGF-I demostró *in vitro* aumentar la progesterona producida por cultivos de células de granulosa (Langhout *et al.*, 1991), lo cual puede ser relevante ya que las células lúteas grandes derivan de aquellas (Hansel y Dowd, 1986).

En un estudio, Morales (1993), administró rbST el día del estro y el día 10 postinseminación a vacas repetidoras encontrando un mejoramiento significativo de la fertilidad y una tendencia al aumento de la progesterona en las vacas tratadas. Los posibles mecanismos por los cuales se logró aumentar el índice de preñez en ese trabajo, podrían ser explicados en varias vertientes, entre ellas están, un probable efecto de la rbST sobre la maduración del ovocito (Pavlock *et al.* 1996; Lorenzo *et al.*, 1995; Sirotkin, 1998), lo cual requeriría un incremento rápido de IGF-I a nivel ovárico después del tratamiento; otra posibilidad es el mejoramiento de las condiciones ambientales oviductales y/o uterinas, vía IGF-I, para el desarrollo temprano del embrión (Geisert *et al.*, 1991; Xia *et al.*, 1996; Makarevich y Sirotkin, 1997), o bien un efecto directo sobre el desarrollo del mismo (Thibodeaux *et al.*, 1995; Izadyar *et al.*, 1996; Matsui *et al.*, 1997); otra razón probable para el aumento de la fertilidad observado, es el incremento de producción de progesterona por el cuerpo lúteo, ya sea mediado por IGF-I o por un efecto propio de la rbST.

Para contribuir a dilucidar el beneficio obtenido por la somatotropina bovina recombinante sobre la fertilidad de las vacas repetidoras mediante un tratamiento corto, el presente estudio buscó conocer si la rbST puede mejorar la fertilidad cuando se aplica los días 3 y 17 postinseminación con el fin de aislar su posible efecto sobre el funcionamiento de un cuerpo lúteo previamente formado, evaluado a través de su producción de progesterona, y descartar en el diseño del experimento la probable influencia de la hormona sobre el folículo ovulatorio, el ovocito, la ovulación y el desarrollo temprano del embrión. El estudio fue dirigido a determinar la influencia de la rbST sobre el índice de preñez y la concentración de progesterona en plasma tanto en vacas repetidoras como de primer servicio, además de establecer la posible intervención de otras variables, como la paridad, los días a primer calor y los días en leche al ciclo estudiado, en la respuesta al tratamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS.

La presente investigación fue realizada en el periodo comprendido entre agosto de 1997 y febrero de 1998 en el Complejo Agroindustrial de Tizayuca (CAITSA) en el Estado de Hidalgo, México, a 19°50' de latitud Norte, 98°50' de longitud Oeste y 2109 m sobre el nivel del mar con un clima Cb (wo) (e)g; su temperatura promedio es de 15° a 26°C y la precipitación pluvial es de 611.2 mm anuales (García, 1987).

Experimento 1.

Fueron utilizadas 502 vacas Holstein de 10 establos con similar manejo y alimentación, 283 fueron de primera inseminación posparto y 219 repetidoras, es decir, con 3 o más servicios sin concepción y sin anomalías patológicas detectables a la palpación rectal.

Todas las vacas fueron agrupadas aleatoriamente en 2 grupos. El grupo tratado consistió de 223 vacas que se inyectaron con 500 mg de rbST de liberación prolongada (Lactotropina Monsanto, Europe, distribuída por Elanco, Mex.), por vía subcutánea los días 3 y 17 después de la inseminación artificial. El grupo testigo, se formó con 279 vacas que no recibieron tratamiento alguno a la inseminación ni después de ella.

Los criterios de inclusión para ambos grupos fueron que las vacas se encontraran entre 2 y 3.5 de condición corporal (en la escala de 1 a 5) (Wildman *et al.*, 1992; Ferguson *et al.*, 1994) y que estuvieran clínicamente sanas.

La detección del celo fue realizada mediante observación directa por una persona experimentada en cada establo 3 veces al día durante una hora como tarea exclusiva y observaciones adicionales al realizar otras actividades. La inseminación se realizó 12 horas después del inicio del estro.

El diagnóstico de gestación se llevó a cabo mediante palpación rectal por una sola persona a los 45 días postinseminación.

Se realizó una comparación mediante análisis de varianza de los dos grupos experimentales (Steel y Torrie, 1985), para corroborar su homogeneidad

en cuanto a días a primer calor, días a primer servicio, días a último servicio y número de partos, además del número de servicios en las repetidoras.

Para evaluar el efecto del tratamiento sobre la fertilidad se comparó mediante un análisis de varianza (Steel y Torrie, 1985) el índice de preñez como variable de respuesta (Walker, 1982) de los grupos de vacas tratadas y testigo (variable explicativa). Además fué comparada la misma variable de respuesta de los animales agrupados por tipo de vaca (primer servicio o repetidora) como variable independiente y en su interacción con el tratamiento.

También se aplicó esta prueba para estudiar el efecto de las variables: paridad (primíparas, multíparas), días a primer calor (<41 días, 41-60, >60) y días en leche al ciclo estudiado (<80, 81-160, >160) en forma independiente y en interacción con el tratamiento, sobre el índice de preñez.

Además, mediante la prueba de Chi cuadrada (Steel y Torrie, 1985) se analizó por grupo experimental (rbST y testigo) la frecuencia del intervalo al siguiente estro de las que no quedaron gestantes y retornaron a éste, agrupando los intervalos en <18, 18 a 24, 25 a 35, >35 días.

Experimento 2.

Fueron usadas 36 vacas con los mismos criterios de inclusión del experimento 1 de seis establos con similar manejo y alimentación en los meses de enero y febrero de 1998 para comparar sus concentraciones de progesterona en plasma durante los 21 días del mismo ciclo estral estudiado.

Se inyectaron 18 vacas por vía subcutánea los días 3 y 17 postinseminación con 500 mg de rbST de liberación prolongada, 9 de las cuales fueron vacas de primer servicio y 9 fueron vacas repetidoras. El grupo testigo consistió en 9 vacas de primer servicio y 9 repetidoras sin ningún tratamiento.

Una vez al día se obtuvieron muestras de sangre por punción de la vena caudal por 21 días comenzando el día de la inseminación (día 1). La sangre fue centrifugada durante 15 minutos a 1500 g dentro de la primera hora después de su obtención. El plasma fue separado y congelado hasta su análisis para

cuantificar progesterona por medio de radioinmunoensayo en fase sólida (Pulido *et.al.*, 1991). La sensibilidad del método fue de 0.1 ng/ml, con un coeficiente de variación intraensayo entre 2.35 y 9.1% e interensayo de 7.3 a 13.2%.

La concentración de progesterona fue analizada obteniendo el área bajo la curva (SAS, 1989) en tres fases del ciclo estudiado: fase 1, del día 1 al 10; fase 2, del día 11 al 16; y fase 3, del día 17 al 21. Se comparó mediante un análisis de varianza el área bajo la curva de las fases 1 y 2 por tratamiento (rbST o testigo), tipo de vaca (primer servicio o repetidora), resultado de la inseminación (gestante o vacía) y para la interacción tratamiento*tipo de vaca. Además se compararon las 3 fases para la interacción tratamiento*resultado de la inseminación. Finalmente se comparó la fase 3 por tratamiento para las vacas que resultaron vacías, con el fin de conocer el efecto de la rbST en la función del cuerpo lúteo más allá del final del diestro; y también para la interacción tratamiento*resultado de la inseminación

RESULTADOS.

Experimento 1.

Al comparar los grupos tratado y testigo por tipo de vaca (primer servicio o repetidora) se encontró homogeneidad en sus medias y homocedasticidad en sus varianzas en cuanto a sus días a primer calor, días a primer servicio y días a último servicio ($P>0.36$). El número de partos resultó ser significativamente diferente entre el grupo tratado (3.3) y el testigo (2.5) únicamente en las vacas repetidoras ($P=0.002$), sin embargo, al analizar el efecto de la paridad sobre el índice de preñez, esta diferencia no fue determinante para la variable de respuesta. Por otra parte al analizar el número de servicios de las vacas repetidoras correspondientes a los grupos tratado y testigo también se comprobó homogeneidad y homocedasticidad ($P=0.37$; Cuadro 1).

El Cuadro 2 ilustra el resultado del análisis de varianza al evaluar el efecto del tratamiento, el tipo de vaca y la interacción de ambos, sobre el índice de preñez como variable dependiente. El grupo rbST obtuvo 41.2% de preñez contra 40.5% del grupo testigo ($P=0.882$). Las vacas de primer servicio alcanzaron el 41.0% contra 40.6% de las repetidoras ($P=0.924$). Los índices de preñez en los grupos contruidos bajo la interacción tratamiento*tipo de vaca fueron, 42.1% para las vacas tratadas de primer servicio; 40.2% para las testigo de primer servicio; 40.4% en las tratadas repetidoras; y finalmente 40.9% para las testigo repetidoras ($P=0.787$). Como se puede apreciar, la rbST no ejerció ningún efecto como variable independiente o en interacción con el tipo de vaca, sobre el índice de preñez; tampoco se halló diferencia entre la preñez obtenida por las vacas de primer servicio contra la de las vacas repetidoras. El porcentaje de vacas gestantes para el total del hato estudiado fue de 40.8.

Para poder evaluar la influencia de la paridad, los días a primer calor y los días en leche en la fertilidad de las vacas, se realizaron análisis de varianza para el efecto de estas variables en forma independiente y en su interacción con el tratamiento, sobre el índice de preñez.

Al estudiar la influencia de la paridad no se halló diferencia alguna entre grupos experimentales ($P=0.889$). Las vacas primíparas tratadas con rbST alcanzaron 44.8% de gestación contra 42.8% de las testigo y las vacas múltiparas tratadas con rbST presentaron 39.3% de gestación contra 38.5% del testigo. Tampoco hubo diferencia entre vacas primíparas (43.6%) y múltiparas (38.9%) independientemente de la interacción ($P=0.280$; Cuadro 3).

Al formar los grupos respecto de sus días al primer calor, las vacas con al menos 40 días tratadas con rbST obtuvieron el 40.0% de preñez y el testigo 39.4%. Las que tenían entre 41 y 60 días tratadas alcanzaron 39.4% de preñez contra 38.9% de las testigo. Las vacas tratadas con rbST de más de 60 días al primer servicio obtuvieron un porcentaje de gestación del 44.2%, mientras que su contraparte testigo alcanzó el 43.2% ($P= 0.998$). Esta variable en forma independiente tampoco afectó la fertilidad pues los porcentajes de gestación para los tres grupos formados fueron similares (39.6, 39.1 y 43.6) ($P=0.661$; Cuadro 4)

En los grupos contruidos por días en leche, se encontró que las vacas tratadas y testigo con menos de 80 días obtuvieron el 41% y el 38.5% de gestación; las que tenían entre 81 y 160 días alcanzaron el 38.5% y 44.3%; y las de más de 160 días obtuvieron 44.3% y 39% respectivamente; ninguna diferencia resultó ser estadísticamente significativa ($P=0.571$). Sin la interacción con el tratamiento, el índice de preñez tampoco fue distinto entre grupos de vacas según sus días en leche (39.4%, 41.5% y 41.6% para cada grupo) ($P=0.931$; Cuadro 5).

Cuando se analizó la frecuencia de los intervalos al siguiente estro en las vacas que no quedaron gestantes y retornaron a él, no hubo diferencias significativas en ninguno de los intervalos contruidos con longitudes predeterminadas ($P>0.05$). En el Cuadro 6 la frecuencia está expresada como porcentaje del tipo de intervalo en relación al total de vacas vacías por grupo experimental. En el caso de los menores a 18 días la frecuencia fue de 3% en las vacas tratadas y de 6% en las testigo; en forma respectiva los retornos ocurridos

entre 18 a 24 días considerados como normales, fueron el 35.1% y 29%; por otra parte los ocurridos entre 25 y 35 días, que podrían ser sugestivos de muerte embrionaria tardía, alcanzaron el 23.7% y 19.3% respectivamente; por último, los retornos con un intervalo mayor a 35 días que a su vez podrían evidenciar la pérdida de un estro intermedio tuvieron la más alta frecuencia en ambos grupos, con 38.1% en las vacas tratadas y 45.2% en las testigo.

Experimento 2.

Para su estudio, el área bajo la curva fue medida en tres fases del ciclo, la primera, del día 1 (día de la inseminación) al día 10, la segunda del día 11 al 16 y la tercera del día 17 al 21.

Se compararon las fases 1 y 2 entre grupos experimentales para conocer el efecto del tratamiento con rbST sobre la producción de progesterona sin la influencia colateral de la gestación. El resultado fue similar para ambos grupos; en la fase 1 el grupo tratado obtuvo un valor del área de 22.55 ± 2.2 ng/ml (área total \pm error estándar) y el testigo de 22.48 ± 2.14 ng/ml ($P=0.90$); en la fase 2 el grupo rbST alcanzó un 35.67 ± 3.28 ng/ml contra el 39.18 ± 3.17 ng/ml del testigo ($P=0.40$; Cuadro 7, Figura A).

Por otra parte se comparó la concentración de progesterona de estas dos fases entre las vacas que resultaron gestantes y las que resultaron no gestantes para conocer si existía una diferencia previa al reconocimiento materno de la gestación. En la fase 1 el área bajo la curva de las vacas no gestantes fue de 22.60 ± 2.1 ng/ml y en las vacas gestantes de 22.44 ± 2.25 ng/ml ($P=0.95$); en la fase 2 tampoco hubo diferencia estadística, las vacas no gestantes presentaron 36.03 ± 3.12 ng/ml y las gestantes 38.81 ± 3.33 ng/ml ($P=0.54$).

Con el fin de evaluar si el tratamiento con rbST ejercía alguna influencia en la producción de progesterona más allá del final del diestro, se comparó el área bajo la curva de la fase 3 del ciclo de las vacas que resultaron no gestantes entre los dos grupos experimentales. El resultado no mostró diferencia

significativa entre ambos grupos; el grupo rbST obtuvo un valor de 18.46 ± 4.47 ng/ml contra el 16.11 ± 5.85 ng/ml del testigo ($P=0.65$).

Con el fin de conocer si existía alguna diferencia en la concentración de progesterona entre las vacas repetidoras y las de primer servicio, se comparó su área bajo la curva en las fases 1 y 2 del ciclo. En la fase 1 las vacas repetidoras obtuvieron 22.45 ± 2.15 ng/ml contra 23.83 ± 2.15 ng/ml en las de primer servicio ($P=0.65$); en la fase 2 los valores obtenidos fueron 39.23 ± 3.24 ng/ml y 37.56 ± 3.24 ng/ml respectivamente, sin diferencia estadísticamente significativa ($P=0.71$; Cuadro 8)

La interacción tratamiento*tipo de vaca no ejerció ningún efecto sobre la producción de progesterona en las fases 1 y 2 ($P=0.97$ y 0.90 respectivamente; Cuadro 9, Figura B).

El área bajo la curva de progesterona en las tres fases para la interacción tratamiento*resultado de la inseminación tampoco fue significativamente distinta ($P=0.15$; 0.10 y 0.38 para cada fase; Cuadro 9).

DISCUSIÓN.

El tratamiento con rbST los días 3 y 17 postinseminación no mejoró la fertilidad del hato en general, ni cuando fueron separadas las vacas por grupos de primer servicio y repetidoras o primíparas y multíparas, ni afectó significativamente el índice de preñez considerando la paridad, los días a primer estro o los días en leche.

La rbST tampoco mejoró los niveles de progesterona plasmática de las vacas en conjunto ni de las de vacas de primer servicio o repetidoras por separado.

En una investigación con vacas repetidoras bajo condiciones experimentales similares, Morales (1993) encontró un índice de concepción significativamente mayor en las vacas inyectadas el día del estro y diez días después con rbST, sin hallar un incremento sostenido en los niveles de progesterona de las vacas tratadas en comparación con el grupo testigo. Los resultados de ambos estudios en conjunto, conducirían a especular que el beneficio obtenido en la fertilidad de vacas repetidoras cuando se inyectó la rbST los días 1 y 10, podría estar relacionado con la habilidad de la rbST de elevar los niveles de IGF-I (Hsu y Hammond, 1987; Holly y Wass, 1989; Gong, *et al.*, 1991; Lucy *et al.*, 1994b; Lucy *et al.*, 1995) y no por un incremento de la secreción de progesterona por el cuerpo lúteo.

El papel de la progesterona como herramienta para incrementar la fertilidad en bovinos deberá clarificarse, ya que al respecto existen resultados poco consistentes. Por una parte, algunos autores han evidenciado su importancia; Roberts y Bazer (1988) afirman que las secreciones uterinas, de las que es críticamente dependiente el desarrollo y diferenciación del embrión, son reguladas por la progesterona. Lukaszewska y Hansel (1980), informaron que ésta era significativamente más alta entre los días 10 y 18 en las vacas gestantes que en las vacías y que el tejido lúteo incubado de animales gestantes tuvo más progesterona que el de vacas ciclando. Kimura *et al.* (1987) observaron una

relación directa entre un patrón irregular de progesterona y la infertilidad de las vacas repetidoras, mencionando que de un 38% de vacas con un patrón normal de progesterona, gestó el 63%, mientras que de un 62% con un patrón irregular, ninguna logró la gestación. La suplementación de progesterona ha dado resultados contradictorios sobre la fertilidad; se han reportado tanto efectos benéficos (Robinson *et al.*, 1989) como nulos (Van Cleeff *et al.*, 1991). Sin embargo, otros investigadores afirman que el nivel de ésta hormona los días 4 al 14 no tiene un significado relativo con el porcentaje de gestación (Geisert *et al.*, 1988; Pritchard e Inskeep, 1993) o que su nivel no difiere entre vacas con fertilidad normal y anormal (Wiebold, 1988); incluso, en otro estudio, Almeida (1995) encontró que las vacas repetidoras mostraron tendencia a tener una mayor concentración de progesterona en plasma, y una significativamente mayor concentración de receptores para esta hormona que las vacas normales.

Lucy *et al.* (1994a) encontraron en los animales inyectados con rbST, mayor cantidad de progesterona en los días 1 al 10 y 15 al 21 del ciclo. Sus resultados pueden diferir con el presente estudio por haber utilizado vaquillas, en lugar de vacas en producción. La rbST y el IGF-I puede tener un diferente efecto sobre los ovarios de vacas lactantes en las cuales la capacidad esteroidogénica está comprometida por la producción láctea (De la Sota *et al.*, 1993); sin embargo, los estudios posteriores del mismo grupo de investigadores no han hallado efectos significativos de la rbST sobre la producción de progesterona *in vivo* en vaquillas (Lucy, *et al.*, 1994b) ni en vacas (Lucy *et al.*, 1995).

Es interesante mencionar los hallazgos de Shemm *et al* (1990) quienes al aplicar 25 mg de rbST al día en un tratamiento de larga duración (200 días) a vacas lecheras comenzando el día 3° después del estro, obtuvo un incremento en la concentración de progesterona en plasma durante los primeros dos ciclos ($P < 0.01$); en el tercero sólo se incrementó en las vacas que comenzaron el tratamiento el día 35 posparto, pero no observó ningún incremento en aquellas

que lo comenzaron al día 70 posparto, y tampoco observó un alargamiento de la fase lútea.

En el caso de las vacas experimentales del presente estudio con un promedio de 83 días posparto las de primer servicio y de 220 días las repetidoras al inicio del tratamiento, no hubo efecto de la rbST sobre la progesterona en ninguna de las fases del ciclo estudiado. La razón de la diferencia en el comportamiento de la progesterona a los 35 y después de los 70 días que encontró Shemm (1990) puede tener relación con el hecho de que las vacas recién paridas están en un balance energético negativo y al tener una menor producción de IGF-I (Atribat, *et al.*, 1990; Spicer, *et al.*, 1990) y de progesterona (Spicer, *et al.*, 1990) responden con un aumento temporal a la estimulación que ejerce la administración exógena de rbST situación que puede haber sido resuelta en las vacas más alejadas de la fecha del parto, del stress de la lactación, de la pérdida de peso y que han normalizado sus niveles de IGF-I y de progesterona.

Los hallazgos en la presente investigación fueron similares a los encontrados por Gong *et al.* (1991) y Dalton y Marcinkowski (1994), que observaron una concentración similar de progesterona en vacas tratadas con rbST y no tratadas.

El hecho de que la rbST no haya inducido un incremento en la progesterona, conduce a especular en la participación del IGF-I como mediador de la respuesta benéfica en el índice de preñez al inyectarse el día del estro. Contrariamente a lo que sucede con la progesterona, las investigaciones han demostrado de manera consistente que la concentración periférica de IGF-I, al administrar rbST, se incrementa en forma significativa (Pell y Bates, 1987; Peel y Bauman, 1987; Atribat *et al.*, 1990; Morbeck *et al.*, 1991; Gong *et al.*, 1991; Gong *et al.*, 1993a y b; Vanderkooi *et al.*, 1995; Newbold *et al.*, 1997; McGuire *et al.*, 1998); además se ha evidenciado que este factor de crecimiento es el mediador de la mayor parte de las acciones de la somatotropina (Holly y Wass, 1989; Brigstock *et al.*, 1989; Hill, 1989).

El incremento de IGF-I, conlleva mecanismos que teóricamente desembocarían en un mejoramiento de la fertilidad debido a sus capacidades que incluyen, síntesis y uso de RNA, estimulación del transporte de aminoácidos, del consumo de glucosa, síntesis de proteínas, síntesis de DNA y replicación celular; el IGF-I antes conocido también como Somatomedina-C ha sido descrito como un agente con cierta capacidad mitogénica y diferenciador de células derivadas de todos los tejidos germinales (Hill, 1989), La principal fuente de IGF-I es el hígado (Hauser *et al.*, 1990; Cohick, 1998), pero se ha demostrado su producción, presencia de receptores o su abundancia, en tejidos reproductivos (Lucy *et al.*, 1998). Bajo la administración de somatotropina, el IGF-I se incrementa también en oviducto (Makarevich y Sirotkin, 1997), producido por sus células epiteliales (Xia *et al.*, 1996; Makarevich y Sirotkin, 1997) donde al parecer tiene una acción autócrina pues se ha demostrado *in vitro* que induce la proliferación celular oviductal en una manera dependiente de la dosis (Tiemann y Hansen, 1993). La hormona del crecimiento también ha demostrado incrementar el IGF-I en ovario (Davoren y Hsueh, 1986; Spicer *et al.*, 1993; Lucy *et al.*, 1995; Pinto Andrade *et al.*, 1996). Las células de la granulosa, de la teca y las células lúteas tienen receptores para IGF-I y II y para insulina, éstos tienen efectos mitogénicos para las células de la granulosa, estimulan la producción de progesterona por la granulosa y de andrógenos y progesterona por la teca (Spicer y Echterkamp, 1995). Aunque en útero la ST no ejerce una acción directa para la expresión del gen para IGF-I (Kirby *et al.*, 1996), se han encontrado concentraciones elevadas de IGF-I y II en lavados uterinos, especialmente los días 0 al 5 del ciclo o en la gestación (Geisert *et al.*, 1991).

El histótrofe que ha sido descrito como las secreciones uterinas involucradas en la nutrición y crecimiento del embrión en sus primeros días de vida (Roberts y Bazer, 1988; Biggers, 1988), ha recibido una especial atención por los investigadores interesados en conocer los sutiles mecanismos que permiten a un embrión sobrevivir a esta etapa crítica y en gran manera

definitiva para su supervivencia. Brigstock *et al.* (1989) mencionan que los factores de crecimiento de acción parácrina, que ligan a receptores en el útero, estimulan la síntesis de DNA, proteínas y la división celular para permitir el desarrollo del embrión e incluso podrían afectar aspectos de la proliferación de las células uterinas que promuevan la angiogénesis y vascularización que son importantes para la nutrición e implantación del embrión.

Otros investigadores también han avalado la relevancia del medio ambiente oviductal y uterino para la supervivencia embrionaria. Proteínas oviductales específicas han sido asociadas con el desarrollo del embrión temprano (Gandolfi *et al.*, 1991b; Wegner y Killian 1991); estudios *in vitro* han mostrado que el tejido oviductal y/o productos de su epitelio estimulan el desarrollo del embrión (Gandolfi y Moor, 1987); algunas de las sustancias responsables son el ya mencionado IGF-I y el PDGF (Factor de crecimiento derivado de plaquetas) detectado en secreciones oviductales (Gandolfi *et al.*, 1991a), el cual estimula el desarrollo de embriones bovinos hasta la etapa de 4 células (Thibodeaux *et al.*, 1993). Por otro lado embriones fertilizados y cultivados *in vitro* en un medio ambiente libre de proteínas fueron desarrollados hasta el estadio de morula al añadir IGF-I e insulina en presencia de aminoácidos, además, un anticuerpo contra el receptor de IGF-I adicionado al cultivo, bloqueó la estimulación (Matsui *et al.*, 1997). Se ha propuesto un mecanismo posible para la acción del IGF-I en oviducto sobre el embrión. El factor de crecimiento puede ser liberado dentro del fluido oviductal, ser captado por los receptores de la mucosa, estimular el desarrollo del embrión directamente, y/o estimular la actividad secretora de la ampolla y producir efectos metabólicos o mitóticos en el embrión; algunas de las sustancias producidas pueden ser glicoproteínas moduladas por esteroides (Murray, 1996).

Desde su llegada al ambiente uterino al cuarto o quinto día postovulación, hasta el día 19 cuando comienza su implantación, el embrión dependerá completamente de las secreciones uterinas para satisfacer sus requerimientos. Se ha observado que las proteínas totales, la glucosa y algunos

minerales difieren significativamente en el fluido uterino de vacas normales y anormales (Wiebold, 1988) y que la supervivencia de los embriones al transferirlos el día 6 postinseminación depende más del tipo de microambiente que ofrecen las vacas receptoras aún en el caso de que se trate de embriones que provengan de vacas repetidoras con un peor ambiente uterino (Almeida, 1995).

Hay una moderada expresión del mRNA para IGF-I en útero durante la fase lútea (Kirby *et al.*, 1996), este factor de crecimiento es secretado al lumen, particularmente alrededor del tiempo del estro; sus concentraciones más altas están presentes en el útero durante el momento del transporte de espermatozoides hasta el día 5 del ciclo (Geisert *et al.*, 1991); se ha evidenciado que el IGF-I puede jugar un papel importante en la regulación de la composición electrolítica del fluido uterino, la cual se conoce que está influenciada por las hormonas esteroideas (Katagiri *et al.*, 1997). Es interesante mencionar que al estudiar mediante microscopía electrónica el lumen uterino. Almeida (1995) encontró que las vacas repetidoras mostraron un decremento en el número de células ciliadas del epitelio endometrial (aparentemente por una mayor concentración de progesterona) comparadas con las vacas normales y menciona que éste problema podría causar una defectuosa distribución de las secreciones en el útero representando a la vez una desventaja para el embrión.

Las condiciones que caracterizan al útero van cambiando conforme avanzan los días del ciclo, de esta forma se puede hablar de una edad del útero y una edad del embrión, a partir de esta dinámica se ha enfatizado la importancia de una necesaria sincronía y comunicación bidireccional. Existen evidencias de que también el embrión temprano establece un diálogo bioquímico con su ambiente y determina parácrinamente, cambios en éste, transformándolo con las características que aquél requiere para su progreso (Thatcher, *et al.*, 1994). La presencia de un embrión tiene un efecto estimulador en la expresión de los niveles de IGF-II (Geisert *et al.*, 1991). Se han hallado evidencias de que ya en el día 6 postservicio, un embrión degenerado inhibe localmente el incremento normal de la síntesis de proteínas

en el útero y/o su liberación en el lumen (Almeida, 1995). A su vez un embrión más avanzado también puede ocasionar la alteración de su microambiente: embriones de 6 días transferidos a ovejas de 4 días postestro, ocasionaron la producción de cinco proteínas no presentes normalmente a esa edad de la gestación, algo similar ocurrió en la transferencia de embriones de 10 días a ovejas de 8 días postestro (Ashworth y Bazer, 1989).

Los embriones bovinos también expresan los mRNA para los receptores de IGF-I y II e insulina (Winger *et al.*, 1997) y su desarrollo es estimulado por estos factores de crecimiento en presencia de aminoácidos (Matsui *et al.*, 1997) y de células del cúmulus (Thibodeaux *et al.*, 1995).

Por otra parte la hormona del crecimiento *in vitro* demostró incrementar significativamente ($P < 0.01$) el número de embriones segmentados al día 4 y de blastocistos desarrollados al día 9 (Izadyar *et al.*, 1996). Además aplicar rbST en algunos experimentos de superovulación, resulta en una mejor respuesta superovulatoria (Rieger *et al.*, 1991), un mayor número de ovulaciones y más embriones recobrados (Gong *et al.*, 1996); pero en su mayor parte, los estudios indican una mayor cantidad de embriones transferibles cuando se aplica la somatotropina con suficiente anticipación, como a los días 4 y 13 del ciclo (Herrier *et al.*, 1994), día 7 (Gong *et al.*, 1996) y al inicio del estro (Morales *et al.*, datos aún no publicados). Por su parte, Cremonesi *et al.* (1994) asocian cuantitativamente la liberación endógena de la hormona de crecimiento con una mayor producción de embriones transferibles.

Los hallazgos reportados sobre las posibles causas de la infertilidad de la vaca repetidora y las evidencias del efecto benéfico de la somatotropina y su mediador principal, el IGF-I, conducen a especular que el mejoramiento en el índice de preñez de las vacas repetidoras al aplicar rbST el día del estro pudo haber ejercido una estimulación directa o vía IGF-I en el desarrollo del embrión, o a través de este factor de crecimiento mejorar la producción de sustancias oviductales y uterinas y con ello propiciar un medio ambiente (normalmente adverso en las vacas repetidoras) más adecuado para la

supervivencia del embrión. Podría sugerirse que el efecto de la aplicación subcutánea al tercer día sea tardío para influenciar de manera positiva el delicado ambiente oviductal y uterino. Es posible que, a pesar de aumentar el IGF-I de 24 a 48 horas después de la inyección de rbST (Gong *et al.*, 1993b), se requiera más tiempo para propiciar las condiciones ambientales adecuadas para un correcto desarrollo embrionario, o bien que sea demasiado tarde para ejercer alguna influencia en un embrión de 4 días, el cual quizás ya curse por un proceso de retraso en su desarrollo (y por lo tanto de asincronía) o bien de degeneración, que se haga manifiesto con su muerte al llegar al útero o algunos días después. Se ha especulado que aproximadamente el 30% de los embriones son afectados por cambios ambientales desde la fertilización hasta el día 5 postestro, que degeneran al tiempo de su transformación a blastocisto, y que podrían ser rescatados si fueran transferidos a un ambiente satisfactorio antes de los 6 o 7 días (Almeida, 1995). Probablemente la rbST administrándola con suficiente anticipación, ejerza un efecto positivo en el ambiente de este tipo de embriones colaborando en su supervivencia.

La otra posibilidad que se puede sugerir del beneficio de la rbST aplicada el día de la inseminación, a la luz de su nulo efecto al tercer día, es alguna participación de esta hormona en la maduración final del ovocito. Se ha encontrado que vacas con un desarrollo embrionario anormal tienen un pico más retardado de LH (Maurer y Echterkamp, 1982), este hecho pudiera tener una repercusión en una desincronización del tiempo embriológico y el ambiente oviductal y/o uterino. Después de inyectar rbST se han detectado altos niveles de IGF-I a nivel ovárico a las 8 horas (Davoren y Hsueh, 1986). Se ha encontrado que al menos uno de los estimuladores de la maduración nuclear del ovocito es el IGF-I pues se demostró que es capaz de inducir la metafase II de la meiosis en ovocitos en presencia de células del cúmulus o en su ausencia (Sirotkin *et al.*, 1998); también se ha hallado que puede actuar sinérgicamente con el EGF (factor de crecimiento epidermal) para inducir la maduración meiótica (Lorenzo *et al.*, 1995).

El experimento llevado a cabo por Pavlock *et al.* (1996) es muy significativo para ilustrar la posibilidad de un efecto de la somatotropina en la maduración del ovocito. Estos investigadores inyectaron 500 mg de rbST el día del estro; después del sacrificio, disección de los ovarios y clasificación de los folículos, cultivaron por 25-28 horas los complejos ovocito-células del cúmulus, encontrando una mayor cantidad de ovocitos sanos ($P < 0.01$) y de ovocitos avanzados a la metafase II ($P < 0.05$) en las vacas tratadas; también hallaron un significativo incremento en los niveles de la hormona del crecimiento en fluido folicular los cuales estaban correlacionados con los niveles hallados en plasma; además encontraron una significativa mayor cantidad de IGF-I en suero (353.6 ng/ml^{-1} en las vacas tratadas vs. 155.5 ng/ml^{-1}).

Por otra parte, se ha mencionado que en tratamientos de larga duración la rbST puede disminuir la manifestación del estro y este fenómeno puede constituir una causa de la menor fertilidad hallada en algunos hatos bajo el uso continuo de la hormona para incrementar la producción láctea (Morbeck *et al.*, 1991). Sin embargo se menciona que la rbST puede acarrear este problema aún desde el próximo ciclo del inicio del tratamiento (Lefebvre y Block, 1992; Kirby *et al.*, 1997b). A pesar de ello en el presente estudio no se observó una distinta frecuencia en el número de intervalos de retorno al estro entre el grupo tratado y el testigo, por lo cual se presume que no existió ese efecto en el caso particular.

El posible uso de la somatotropina bovina recombinante como herramienta para mejorar la fertilidad deberá tomar en cuenta los resultados aquí presentados y discutidos, es decir, un nulo efecto de la hormona al aplicarla al tercer día postservicio, el beneficio obtenido al inyectarse el día de la inseminación y los conocimientos obtenidos de las investigaciones sobre la influencia de la rbST en el desarrollo del embrión, la modificación de su entorno ambiental, su efecto sobre el ovocito, inclusive su evidente estimulación del desarrollo folicular (Gong *et al.*, 1991, 1993a; Webb, 1994; Lucy *et al.*, 1994a, 1995; Spicer y Stewart 1996; Kirby 1997a y b) y sobre la

ovulación (Shemm *et al.*, 1990; Gallo y Block 1991; Funston *et al.*, 1996; Pinto Andrade 1996).

CONCLUSION Y RECOMENDACIONES.

Los resultados mostraron que 500 mg de rbST de liberación prolongada, al aplicarse los días 3 y 17 postinseminación, no mejoran la fertilidad ni la función del cuerpo lúteo evaluada a través de la concentración de progesterona plasmática en las vacas Holstein de primer servicio o repetidoras.

Aún se requerirán muchas investigaciones acerca de la influencia de la rbST sobre la fertilidad, tanto en tratamientos cortos como en los de larga duración, pues existen resultados que llevan a especular sobre la participación importante de otras variables como la producción de leche y el estatus energético así como la dieta y su composición. Para el diseño de futuros estudios se recomienda controlar estos aspectos con el fin de aislar el efecto de la rbST como variable explicativa.

Se recomienda investigar el efecto de la rbST administrándola antes de la inseminación para intentar favorecer el desarrollo folicular y la maduración del ovocito, y una mejor sincronización del crecimiento del embrión con un ambiente oviductal y uterino específico.

Los mecanismos de acción de la somatotropina en los aspectos reproductivos del ganado bovino, así como en otras especies, además de los referidos a su principal mediador, el IGF-I, su regulación a través de proteínas de enlace y receptores celulares, su interacción con otros factores de crecimiento, su relación con las gonadotropinas y con las hormonas esteroides, garantizan una gran fuente de investigación futura y requerirán la aplicación de una mayor cantidad de recursos y tecnología para poder contribuir en el despliegue que los investigadores han realizado en esta área de la ciencia a nivel mundial.

ovulación (Shemm *et al.*, 1990; Gallo y Block 1991; Funston *et al.*, 1996; Pinto Andrade 1996).

CONCLUSION Y RECOMENDACIONES.

Los resultados mostraron que 500 mg de rbST de liberación prolongada, al aplicarse los días 3 y 17 postinseminación, no mejoran la fertilidad ni la función del cuerpo lúteo evaluada a través de la concentración de progesterona plasmática en las vacas Holstein de primer servicio o repetidoras.

Aún se requerirán muchas investigaciones acerca de la influencia de la rbST sobre la fertilidad, tanto en tratamientos cortos como en los de larga duración, pues existen resultados que llevan a especular sobre la participación importante de otras variables como la producción de leche y el estatus energético así como la dieta y su composición. Para el diseño de futuros estudios se recomienda controlar estos aspectos con el fin de aislar el efecto de la rbST como variable explicativa.

Se recomienda investigar el efecto de la rbST administrándola antes de la inseminación para intentar favorecer el desarrollo folicular y la maduración del ovocito, y una mejor sincronización del crecimiento del embrión con un ambiente oviductal y uterino específico.

Los mecanismos de acción de la somatotropina en los aspectos reproductivos del ganado bovino, así como en otras especies, además de los referidos a su principal mediador, el IGF-I, su regulación a través de proteínas de enlace y receptores celulares, su interacción con otros factores de crecimiento, su relación con las gonadotropinas y con las hormonas esteroides, garantizan una gran fuente de investigación futura y requerirán la aplicación de una mayor cantidad de recursos y tecnología para poder contribuir en el despliegue que los investigadores han realizado en esta área de la ciencia a nivel mundial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Abribat, T., Lapierre, H., Dubreuil, P., Pelletier, G., Gaudreau, P., Brazeau, P. and Petitclerc, D., 1990. Insuline-like growth factor concentration in Holstein female cattle: variations with age, stage of lactation and growth hormone-releasing factor administration. Domestic Animal Endocrinology 7(1): 93-102.
2. Albihn, A, Gustafsson, H., Rodríguez-Martínez, H. and Larsson, K., 1989. Development of day 7 bovine demi-embryos transferred into virgin and repeat-breeder heifers. Anim. Reprod. Sci. 21: 161-176.
3. Almeida, A. P., 1995. Early embryonic mortality in "repeat-breeder" cows. Ars Veterinaria 11(2): 18-34.
4. Anta, E., Rivera, J.A., Galina, C., Porras, A. y Zarco. L., 1989. Análisis de la información publicada en México sobre eficiencia reproductiva de los bovinos. II. Parámetros reproductivos. Vet. Mex. 20; 11-18.
5. Ashworth, C. J. and Bazer , F. W. 1989. Changes in ovine conceptus and endometrial function following asynchronous embryo transfer or administration of progesterone. Biol. Reprod. 40: 425abstr.
6. Ayalon, N., 1978. A review of embyonic mortality in cattle. J. Reprod Fertil. 54: 483-493.
7. Ayalon, N., 1981. Embryo mortality in cattle. Zuchthygiene 16: 97-109.
8. Bartlett, P. L., 1986. Repeated insemination in Michigan Holstein Fresian cattle. Incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. Theriogenology 26: 309-316.
9. Bascom, S. S. and Young, A. J., 1998. A summary of the reasons why farmers cull cows. J. Dairy Sci. 81: 2299-2305.
10. Bauman, D. E., Eppard, P. J., DeGeeter, M. J. and Lanza, G. M., 1985. Responses of high producing dairy cows to long-term treatment with pituitary somatotropin and recombinant somatotropin. J. Dairy Sci. 68: 1352abstr.

11. Biggers, J., 1988. Introductory remarks on the milieu of the egg and the early embryo. J. Reprod. Fertil. 82: 809-811.
12. Bon Durant, R. H., Revah, I., Franti, C., Haman, R. J., Hird, D., Klingborg, D., McCloskey, M., Weaver, L., Wilgenberg, B., 1991. Effect of gonadotropin-releasing hormone on fertility in repeat-breeder California dairy cows. Theriogenology 35: 365-374.
13. Brigstock, D. R., Heap, R. B. and Brown, K. D., 1989. Polypeptide growth factors in uterine tissues and secretions. J. Reprod. Fertil. 85: 747-758.
14. Cohick, W. S., 1998. Role of the insuline-like growth factors and their binding proteins in lactation. J. Dairy Sci. 81: 1769-1777.
15. Cremonesi, F., Perucchetti, E., Borromeo, V. and Secchi, C., 1994. Growth hormone and prolactin secretion after clonidine administration and superovulatory response in lactating Holstein cows. Theriogenology 41: 184abstr.
16. Dalton, J. C. and Marcinkowski, D. P., 1994. Effect of sometribove administration on LH concentration in dairy cattle. Theriogenology 41: 437-445.
17. Davoren, J. B. and Hsueh, A. J. W., 1986. Growth hormone increases ovarian levels of immunoreactive somatomedin c/insulin like growth factor I *in vivo*. Endocrinology 118(2): 888-890.
18. De la Sota, R. L., Lucy, M. C., Staples, C. R. and Thatcher, W. W. 1993. Effects of recombinant bovine somatotropin (sometribove) on ovarian function in lactating and nonlactating dairy cows. J. Dairy Sci. 76: 1002-1013.
19. Diskin, M. G. and Sreenan, J. M. 1980. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. J. Reprod. Fertil. 59: 463-468.
20. Eduvic, L. O. and Seguin, B. E., 1982. Corpus luteum function and pregnancy rate in lactating dairy cows given human chorionic gonadotropin at middiestrus. Theriogenology 17(4): 415-422.

21. Ferguson, J. D., Galligan, D. T. and Thomsen, N., 1994. Principal descriptor of body condition score in Holstein cows. J. Dairy Sci. **77**: 2695-2703.
22. Funston, R. N., Seidel Jr., G. E., Klindt, J. and Roberts, A. J., 1996. Insulin-like growth factor-binding proteins in bovine serum and follicular fluid before and after the preovulatory surge of luteinizing hormone. Biol. Reprod. **55**: 1390-1396.
23. Gallo, G. F. and Block, E., 1990. Effects of recombinant bovine somatotropin on nutritional status and liver function of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. **73**: 3276-3286.
24. Gallo, G. F. and Block, E. 1991. Effects of recombinant bovine somatotropin on hipophyseal and ovarian functions of lactating dairy cows. Can. J Anim. Sci. **71**: 343-353.
25. Gandolfi, F. and Moor, R. M., 1987. Stimulation of early embryonic development in the sheep by co-culture with oviduct epithelial cells. J. Reprod. Fertil. **83**: 23abstr.
26. Gandolfi, F., Brevini, T. A. L., Modina, S. and Lauria, A., 1991a. Detection and characterization of a growth factor in bovine oviduct secretions. J. Reprod. Fertil. **7**: 6abstr.
27. Gandolfi, F., Modina, S., Brevini, T. A. L., Galli, C., Moor, R. M. and Lauria, A., 1991b. Oviduct ampullary epithelium contributes a glycoprotein to the zona pellucida, perivitelline space and blastomeres membrane of sheep embryos. Eur. J. Basic Appl. Histochem. **35**: 383abstr.
28. Gandolfi, F., 1994. Autocrine, paracrine and enviromental factors influencing embryonic development from zygote to blastocyst. Theriogenology **41**: 95-100.
29. García, E., 1987. Modificación al sistema de clasificación climática de Köpen. 4ª ed. México. D. F. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México.
30. Geisert, R. D., Zavy, M. T., Biggers, B. G., Garret, J. E., Wettermann, R. P., 1988. Characterization of the uterine environment during early conceptus

- expansion in the bovine. Anim. Reprod. Sci. 16: 11-25.
31. Geisert, R. D., Lee, CH., Simmen, F. A., Zavy, M. T., Fliss, A. E., Bazer, F. W. and Simmen, R. C. M., 1991. Expression of messenger RNAs encoding insulin-like growth factor-I, -II, and insulin-like growth factor binding protein-2 in bovine endometrium during the estrous cycle and early pregnancy. Biol. Reprod. 45: 975-983.
 32. Gong, J. G., Bramley, T. and Webb, R., 1991. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers: follicular populations and peripheral hormones. Biol. Reprod. 45: 941-949.
 33. Gong, J. G., Bramley, T. and Webb, R., 1993a. The effect of recombinant bovine somatotrophin on ovarian follicular growth and development in heifers. J. Reprod. Fertil. 97: 247-254.
 34. Gong, J. G., Bramley, T., Wilmut, I. and Webb, R., 1993b. Effect of recombinant bovine somatotropin on the superovulatory response to pregnant mare serum gonadotropin in heifers. Biol. Reprod. 48: 1141-1149.
 35. Gong, J. G., Wilmut, I., Bramley, T. A. and Webb, R., 1996. Pretreatment with recombinant bovine somatotropin enhances the superovulatory response to FSH in heifers. Theriogenology 45: 611-622.
 36. Goodman, R. L. and Karsch, F. J., 1980. Pulsatile secretion of luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids. Endocrinology 107: 1286abstr.
 37. Gustafsson, H., 1985. Characteristics of embryos from repeat breeder and virgin heifers. Theriogenology 23 : 487-498.
 38. Hansel, W. and Dowd, J. P., 1986. New concepts on the control of corpus luteum function. J. Reprod. Fertil. 78: 755-768.
 39. Hauser, S. D., McGrath, M. F., Collier, R. J. and Kirivi, G. G., 1990. Cloning and *in vivo* expression of bovine growth hormone receptor mRNA. Mol. Cell. Endocrinol. 72: 187-200.
 40. Herrier, A., Einspanier, R., Schams, D. and Niemann, H., 1994. Effect of recombinant bovine somatotropin (rBST) on follicular IGF-I contents and the

- ovarian response following superovulatory treatment in dairy cows: a preliminary study. Theriogenology 41: 601-611.
41. Hill, D. J., 1989. Growth factors and their cellular actions. J. Reprod. Fertil. 85: 723-734.
42. Holly, J. M. P. and Wass, J. A. H., 1989. Insuline- like growth factors: autocrine, paracrine or endocrine? New perspectives of the somatomedin hypothesis in the light of recent developments. J. Endocrinol. 122: 611-618.
43. Hsu, C. J. and Hammond, J. M. 1987. Concomitants effects of growth hormone on secretion of insulin-like growth factor-I and progesterone by cultured porcine granulosa cells. Endocrinology 121: 1343-1348.
44. Ireland, J. J. and Roche, J. F., 1982. Effect of progesterone on basal LH and episodic LH and FSH secretion in heifers. J. Reprod. Fertil. 64: 295abstr.
45. Izadyar, F., Colenbrander, B. and Bevers, M. M., 1996. Growth hormone stimulates *In vitro* bovine oocyte maturation and subsequent embryonic development. Theriogenology 45(1): 279abstr.
46. Katagiri, S., Ma, S., Ho Yuen, B. and Moon, Y. S., 1997. Role for insulin-like growth factor I in the regulation of electrolyte composition of uterine luminal fluid. J. Reprod. Fertil. 109: 115-120.
47. Kerbler, T. L., Buhr, M. M., Jordan, L. T., Leslie, K. E. and Walton J. S., 1997. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. Theriogenology 47: 703-714.
48. Kimura, M., Nakao, T., Moriyoshi, M. and Kawata, K. 1987. Luteal phase deficiency as a possible cause of repeat breeding in dairy cows. Br. Vet. J. 143 : 560-566.
49. Kirby, C. J., Thatcher, W. W., Collier R. J., Simmen, F. A. and Lucy, M. C., 1996. Effects of growth hormone and pregnancy on expression of growth hormone receptor, insuline-like growth factor-I, and insulin-like growth factor binding protein-2 and -3 genes in bovine uterus, ovary, and oviduct. Biol. Reprod. 55: 996-1002.

50. Kirby, C. J., Smith, M.F., Keisler, D. H. and Lucy, M. C., 1997a. Follicular function in lactating dairy cows treated with sustained-release bovine somatotropin. J. Dairy Sci. 80: 273-285.
51. Kirby, C. J., Wilson, S. J. and Lucy, M. C., 1997b. Response of dairy cows treated with bovine somatotropin to a luteolytic dose of prostaglandin F_{2α}. J. Dairy Sci. 80: 286-294.
52. Langhout, D. J., Spicer, L. J. and Geisert, R.D., 1991. Development of a culture system for bovine granulosa cells: effects of growth hormone, estradiol, and gonadotropins on cell proliferation, steroidogenesis, and protein synthesis. J. Anim. Sci. 69: 3321-3334.
53. Lefebvre, D. M. and Block, E., 1992. Effect of recombinant bovine somatotropin on estradiol-induced estrous behavior in ovariectomized heifers. J. Dairy Sci. 75: 1461-1464.
54. Liebermann, J., Schams, D. and Miyamoto, A., 1996. Effects of local growth factors on the secretory function of bovine corpus luteum during the oestrous cycle and pregnancy *in vitro*. Reprod. Fertil. Dev. 8: 1003-1011.
55. Linares, T., 1982. Embryonic development in repeat breeder and virgin heifers seven days after insemination. Anim. Reprod. Sci. 4 : 189-198.
56. Lorenzo, P. L., Illera, M. J., Illera, J. C., and Illera, M., 1995. Role of EGF, IGF-I, sera and cumulus cells on maturation *in vitro* of bovine oocytes. Theriogenology 44: 109-118.
57. Lucy, M. C., Collier, R. J., Kitchell, M. L., Dibner, J. J., Hauser, S. D. and Krivi, G. G., 1993. Immunohistochemical and nucleic acid analysis of somatotropin receptor populations in the bovine ovary. Biol. Reprod. 48: 1219-1227.
58. Lucy, M. C., Curran, T. L., Collier, R. J. and Cole, W. J., 1994a. Extended function of the corpus luteum and earlier development of the second follicular wave in heifers treated with bovine somatotropin. Theriogenology 41: 561-572.

59. Lucy, M. C., Byatt, J. C., Curran, T. L., Curran, D. F. and Collier, R. J., 1994b. Placental lactogen and somatotropin: hormone binding to the corpus luteum and effects on the growth and functions of the ovary in heifers. Biol. Reprod. **50**: 1136-1144.
60. Lucy, M. C., Thatcher, W. W., Collier, R. J., Simmen, F. A., Ko, Y., Savio, J. D. and Bandinga, L., 1995. Effects of somatotropin on the conceptus, uterus, and ovary during maternal recognition of pregnancy in cattle. Domestic Animal Endocrinology **12**: 73-82.
61. Lucy, M. C., Boyd, C. K., Koenigsfeld, A. T. and Okamura, C. S., 1998. Expression of somatotropin receptor messenger ribonucleic acid in bovine tissues. J. Dairy Sci. **81**: 1889-1895.
62. Lukaszewska, J., and Hansel, W., 1980. Corpus luteum maintenances during early pregnancy in the cow. J. Reprod. Fertil. **59**: 485-493.
63. Makarevich, A. V. and Sirotkin, A. V., 1997. The involvement of the GH/IGF-I axis in the regulation of secretory activity by bovine oviduct epithelial cells. Anim. Reprod. Sci. **48**: 197-207.
64. Matsui, M., Takahashi, Y., Hishinuma, M. and Kanagawa, H. 1997. Stimulation of the development of bovine embryos by insulin and insulin-like growth factor-I (IGF-I) is mediated through the IGF-I receptor. Theriogenology **48**: 605-616.
65. Maurer, R. R. and Echternkamp, S.E., 1982. Hormonal asynchrony and embryonic development. Theriogenology **17**: 125-132.
66. Maurer R. R. and Chenault J. R., 1983. Fertilization failure and embryonic mortality in parous and nonparous beef cattle. J. Anim. Sci. **56**: 1186-1189.
67. McGuire, M. A., Dwyer, D. A., Bauman, D. E. and Smith, D. F., 1998. Insuline-like growth factors in plasma and afferent mammary limph of lactating cows deprived of feed or treated with bovine somatotropin. J. Dairy Sci. **81**: 950-957.
68. Morales, J. S. 1993. Efecto de un tratamiento corto de rbST ("Lactotropina") sobre la fertilidad de vacas Holstein repetidoras. Tesis de Maestría. México,

- D. F., Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.
69. Morbeck, D. E., Britt, J. H. and McDaniel, B. T. 1991. Relationships among milk yield , metabolism and reproductive performance of primiparous Holstein cows treated with somatotropin. J. Dairy Sci. 74: 2153-2164.
 70. Murray, M. K., 1996. Changes in secretory status, cell height and percentage ciliation of epithelial lining of sheep fimbria oviduct during early pregnancy. J. Reprod. Fertil. 106: 173-183.
 71. Newbold, J. A., Heap, R. B., Prosser, C. G., Phipps, R. H. Adriaens, F. and Hard, D. L., 1997. The effect of bovine somatotropin and diet on somatotropin binding sites in hepatic tissue of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 80: 1085-1091.
 72. Pavlock, A., Koutecká, L., Krejčí, P., Slavík, T., Cerman, J., Slaba, J. and Dorn, D., 1996. Effect of recombinant bovine somatotropin on follicular growth and quality of oocytes in cattle. Anim. Reprod. Sci. 41: 183-192.
 73. Peel, C. J. and Bauman, D. E., 1987. Somatotropin and lactation. J. Dairy Sci. 70: 474-486.
 74. Pell, J. M. and Bates, P. C., 1987. The nutritional regulation of growth hormone action. Nutr. Res. Rev. 3: 163-192.
 75. Pinto Andrade, L., Rhind, S. M., Wright, I. A., McMillen, S. R., Goddard, P. J. and Bramley, T. A., 1996. Effects of bovine somatotropin (bST) on ovarian function in post-partum beef cows. Reprod. Fertil Dev. 8: 951-960.
 76. Pritchard, J. Y. and Inskoop, E. K., 1993. Relationship of conception rate to peripheral concentrations of progesterone and estradiol. Biol. Reprod. 48(suppl.1): 88abstr.
 77. Pulido, A., Zarco, L., Galina, C. S., Murcia, C., Flores, G. and Posadas, E., 1991. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. Theriogenology 35: 965-975.
 78. Rieger, D., Walton, J. S., Goodwin, M. L. and Johnson, W. H., 1991. The

- effect of co-treatment with recombinant bovine somatotrophin on plasma progesterone concentration and number of embryos collected from superovulated Holstein heifers. Theriogenology 35(5): 863-868.
79. Roberts, R. M. and Bazer, F. W., 1988. The functions of uterine secretions. J. Reprod. Fertil. 82: 875-892.
80. Robinson, N. A., Keneth, E. Leslie and Walton, J. S., 1989. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. J. Dairy Sci. 72: 202-207.
81. SAS. SAS/STAT User's Guide, Version 6, 1989. 4th ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.
82. Sauerwein, H., Miyamoto, A., Günther, J., Meyer, H. H. D. and Schams D. 1992. Binding and action of insuline-like growth factors and insulin in bovine luteal tissue during the oestrous cycle. J. Reprod. Fertil. 96: 103-115.
83. Schams, D., Koll, R. and Li, C. H., 1987. Insuline-like growth factor-I stimulates oxytocin and progesterone production by bovine granulosa cells in culture. J. Endocrinol. 116: 97-100.
84. Shelton, K., Gayerie de Abreu, M. F., Hunter, M.G., Parkinson, T. J. and Lamming, G. E. 1990. Luteal inadequacy during the early luteal phase of subfertile cows. J. Reprod. Fertil. 90: 1-10.
85. Shemm, S. R., Deaver, D. R., Griel, L. C. and Muller, L. D., 1990. Effects of recombinant bovine somatotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows. Biol. Reprod. 42: 815-821.
86. Sianangama, P. C. and Rajamahendran, R., 1992. Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. Theriogenology 38: 85-96.
87. Simmen, R. C. M., Ko, Y. and Simmen, F.A., 1993. Insulin-like growth factors and blastocyst development. Theriogenology 39: 163-175.
88. Sirotkin, A. V., Taradjnik, T. E., Makarevich, A. V. and Bulla, J., 1998. Effect of follicular cells, IGF-I and tyrosine kinase blockers on oocyte maturation. Anim. Reprod. Sci. 51: 333-344.

89. Spicer, L. J., Tucker, W. B. and Adams, G. D., 1990. Insulin-like growth factor-I in dairy cows: Relationships among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrous behavior. J. Anim. Sci. 73: 929-937.
90. Spicer, L. J., Alpizar, E. and Echternkamp, S. E., 1993. Effects of insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, and(or) insulin-like growth factor I production *in vitro*. J. Anim. Sci. 71: 1232-1241.
91. Spicer, L. J. and Echternkamp, S. E., 1995. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. Domestic Animal Endocrinology 12: 223-245.
92. Spicer, L. J. and Stewart, R. E., 1996. Interaction among bovine somatotropin, insulin, and gonadotropins on steroid production by bovine granulosa and thecal cells. J. Dairy Sci. 79: 813-821.
93. Staples, C. R. and Head, H. H., 1988. Short-term administration of bovine somatotropin to lactating dairy cows in a subtropical environment. J. Dairy Sci. 71: 3274-3282.
94. Steel, R. G. D. y Torrie, J. H., 1985. Bioestadística. Principios y Procedimientos. Mc Graw Hill, México, D. F.
95. Stevenson, J. S., Call, E. P., Scoby, R. K., and Phatak, A. P. 1990. Double insemination and gonadotropin-releasing hormone treatment of repeat-breeding dairy cattle. J. Dairy Sci. 73: 1766-1772.
96. Swanson, L. V., and Young, A. J., 1990. Failure of gonadotropin-releasing hormone or human chorionic gonadotropin to enhance the fertility of repeat breeder cows when administered at the time of insemination. Theriogenology 34: 955-963
97. Tanner, J. W. and Hauser, S. D., 1989. Molecular evidence for the presence of the somatotropin receptor in the bovine ovary. J. Anim. Sci. 67(suppl.1): 413abstr.1001.
98. Thatcher, W. W., MacMillan, K. L., Hansen, P. J. and Drost, M., 1989. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and

- ovarian follicles to improve fertility. Theriogenology 31 : 149-164.
99. Thatcher, W. W., Staples, C. R., Danet-Desnoyers, G., Oldick, B., and Schmitt, E.-P., 1994. Embryo health and mortality in sheep and cattle. J. Anim. Sci. 72(suppl. 3): 16-30.
100. Thatcher, W. W., Binelli, M., Burke, J., Staples, C. R., Ambrose, J. D. and Coelho, S., 1997. Antiluteolytic signals between the conceptus and endometrium. Theriogenology 47: 131-140.
101. Thibodeaux, J. K., Dei Vecchio, R. P. and Hansel, W., 1993. Role of platelet-derived growth factor in development of *in vitro* matured and *in vitro* fertilized bovine embryos. J. Reprod. Fertil. 98: 61abstr.
102. Thibodeaux, J. K., Myers, M. W., Prough, S. G. and White, K. L. 1995. Effect of a extender containing growth factors on development of IVM and IVF bovine embryos. Theriogenology 44: 423-432.
103. Tiemann, U. and Hansen, P. J., 1993. Regulation of bovine oviductal epithelial cells by steroids and polypeptide growth factors. J. Reprod. Fertil. 12: 43abstr.
104. Torres, C. y Valencia, G., 1995. Caracterización de la fertilidad en vacas Holstein con diferente número de servicios en la cuenca lechera de Tizayuca, Hidalgo. Tesis de licenciatura. Edo. de Mex., México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.
105. Van Ceff, J., Macmillan, K. L., Thatcher, W. W. and Lucy, M. C., 1989. Estrous synchronization and fertility in heifers treated with CIDR before and after insemination. J. Anim. Sci. 65(suppl.1): 383abstr.
106. Van Cleff, J., Drost, M. and Thatcher, W. W., 1991. Effects of postinsemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. Theriogenology 36(5): 795-807.
107. Vanderkooi, W. K., Vandehaar, M. J., Sharma, B. K., Binelli, M., Tucker, H. A., Akers, R. M. and Moseley, W. M., 1995. Comparison of growth hormone-releasing factor and somatotropin: the somatotropic axis in lactating primiparous cows. J. Dairy Sci. 78: 2140-2149.

108. Walker, R. H., 1982. Least-squares analysis of discrete data. *J. Anim. Sci.* 54: 1067-1071.
109. Walton, J. S., Halbert, G. W., Robinson, N. A. and Leslie, K. E., 1990. Effects of progesterone and human chorionic gonadotrophin administration five days postinsemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. *Can. J. Vet. Res.* 54: 305-308
110. Webb, R., Gong, J. G. and Bramley, T. A., 1994. Role of growth hormone and intrafollicular peptides in follicle development in cattle. *Theriogenology* 41: 25-30 (1994).
111. Wegner, C. C. and Killian, G. J., 1991. *In vitro* and *in vivo* association of an oviduct estruo-associated protein with bovine zona pellucida. *Mol. Reprod. Dev.* 29: 77abstr.
112. Wiebold, J. L., 1988. Embryonic mortality and the uterine environment in first-service lactating dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 84: 393-399.
113. Wildman, E. E., Jones, G. M., Wagner, P. E., Boman, R. L., Trout, H. F. and Lesch, T. N., 1992. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production variables in high producing Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 65: 495.
114. Winger, Q. A., De los Rios, P., Han, V. K. M., Armstrong, D. T., Hill, D. J. and Watson, A. J., 1997. Bovine oviductal and embryonic insulin-like growth factor binding proteins: possible regulators of "embryotrophic" insuline-like growth factor circuits. *Biol. Reprd.* 56: 1415-1423.
115. Xia, P., Han, V. K. M., Viuff, D., Armstrong, D. T. and Watson, A. J., 1996. Expression of insuline-like growth factors in two bovine oviductal cultures employed for embryo co-culture. *J. Endocrinol.* 149: 41-53.

CUADRO 1

HOMOGENEIDAD ENTRE GRUPOS DE VACAS TRATADAS
CON rbST Y NO TRATADAS, DE PRIMER SERVICIO Y REPETIDORAS

GRUPO	n	Días a 1er. calor media	Días a 1er. servicio media	Días a último servicio media	No. de partos media	No. De servicios media
rbST primer servicio	114	55 ^a	83.0 ^a	83.0 ^a	2.9 ^a	1.0 ^a
Testigo primer servicio	169	61.8 ^a	84.5 ^a	84.5 ^a	2.7 ^a	1.0 ^a
Total primer servicio	283	59.0	83.9	83.9	2.8	1.0
rbST repetidoras	109	51.4 ^a	72.3 ^a	210.3 ^a	3.3 ^b	4.5 ^a
testigo repetidoras	110	50.3 ^a	68.1 ^a	216.2 ^a	2.5 ^a	4.7 ^a
Total repetidoras	219	50.9	70.2	213.2	2.9	4.6
TOTAL POR HATO	502	54.95	77.0	148.5	2.8	2.8

^a ^b. Para una determinada columna, diferente superíndice indica diferencia significativa entre grupos experimentales.

Se halló una diferencia significativa entre grupos experimentales en el número de partos de las vacas repetidoras (P=0.0025)

CUADRO 2

ÍNDICE DE PREÑEZ DE LAS VACAS TRATADAS CON rbST Y DE LAS NO TRATADAS, DE PRIMER SERVICIO, REPETIDORAS Y TOTAL POR TRATAMIENTO.

GRUPO	TIPO DE VACA		Total por tratamiento %
	Primer servicio %	Repetidora %	
rbST	42.1 (48/114)	40.4 (44/109)	41.2 (92/223)
Testigo	40.2 (68/169)	40.9 (45/110)	40.5 (113/279)
			Total del hato
Total por tipo de vaca	41.0 (116/283)	40.6 (89/219)	40.8 (205/502)

Fuente	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Tratamiento	0.0053	0.02	0.882
Tipo de vaca	0.0034	0.01	0.905
Tratamiento*Tipo de vaca	0.0176	0.07	0.787

El índice de preñez no resultó influenciado por el tratamiento, el tipo de vaca o la interacción de ambas variables.

CUADRO 3

ÍNDICE DE PREÑEZ DE LAS VACAS TRATADAS CON rbST
Y DE LAS NO TRATADAS, PRIMÍPARAS Y MULTÍPARAS.

GRUPO	GRUPOS DE VACAS SEGUN SU PARIDAD		Total por tratamiento %
	Primiparas %	Múltiparas %	
rbST	44.8 (35/78)	39.3 (57/145)	41.2 (92/223)
Testigo	42.8 (54/126)	38.5 (59/153)	40.5 (113/279)
			Total del hato
Total por paridad	43.6 (89/204)	38.9 (116/298)	40.8 (205/502)

<i>Fuente</i>	<i>Cuadrados medios</i>	<i>Valor de F</i>	<i>Pr > F</i>
<i>Tratamiento</i>	0.0223	0.09	0.761
<i>Paridad</i>	0.2841	1.17	0.280
<i>Tratamiento*Paridad</i>	0.0046	0.02	0.889

El Índice de preñez no fué influenciado por la variable paridad ni su interacción con el tratamiento.

CUADRO 4

ÍNDICE DE PREÑEZ DE LAS VACAS TRATADAS CON rbST
Y DE LAS NO TRATADAS, SEGÚN LOS DÍAS AL PRIMER ESTRO POSPARTO.

GRUPO	GRUPOS DE VACAS SEGÚN SUS DÍAS AL PRIMER ESTRO POSPARTO			Total por tratamiento %
	< 41 %	41 - 60 %	> 60 %	
rbST	40.0 (32/80)	39.4 (26/66)	44.2 (34/77)	41.2 (92/223)
Testigo	39.4 (37/94)	38.9 (35/90)	43.2 (41/95)	40.5 (113/279)
Total por días a 1° estro	39.6 (69/174)	39.1 (61/156)	43.6 (75/172)	Total del hato 40.8 (205/502)

Fuente	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Tratamiento	0.0062	0.03	0.872
Grupos por días a 1° estro	0.1011	0.41	0.661
Tx * días a primer estro	0.0002	0.00	0.998

El índice de preñez no fué influenciado por la variable días a primer estro posparto ni por su interacción con el tratamiento.

CUADRO 5

ÍNDICE DE PREÑEZ DE LAS VACAS TRATADAS CON rbST
Y DE LAS NO TRATADAS SEGÚN SUS DÍAS EN LECHE.

GRUPO	GRUPOS DE VACAS SEGÚN SUS DÍAS EN LECHE			Total por tratamiento %
	< 80 %	81 - 160 %	> 160 %	
rbST	41.0 (25/61)	38.5 (32/83)	44.3 (35/79)	41.2 (92/223)
Testigo	38.5 (42/109)	44.3 (39/88)	39.0 (32/82)	40.5 (113/279)
				Total del hato
Total por días en leche	39.4 (69/170)	41.5 (71/171)	41.6 (67/161)	40.8 (205/502)

Fuente	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Tratamiento	0.0052	0.02	0.883
Grupos por días en leche	0.0172	0.07	0.931
T x días en leche	0.1372	0.56	0.571

El índice de preñez no fue influenciado por la variable días en leche al ciclo estudiado, ni por su interacción con el tratamiento.

ESTA
SALIR
DE
LA
BIBLIOTECA
NO
DEBE

CUADRO 6

FRECUENCIA DE INTERVALOS DE RETORNO AL ESTRO POSTERIOR A LA I.A. DEL PERÍODO ESTUDIADO EN LAS VACAS QUE RESULTARON NO GESTANTES POR GRUPO EXPERIMENTAL.

GRUPO	INTERVALOS DE RETORNO AL ESTRO POSTERIOR A LA I.A. DEL CICLO ESTUDIADO				Total de retornos por tratamiento %
	< 18 %	18 - 24 %	25 - 35 %	> 35 %	
rbST	3.0 (4/131)	35.1 (46/131)	23.7 (31/131)	38.1 (50/131)	58.7 (131/223)
TESTIGO	6.0 (10/166)	29.0 (49/166)	19.3 (32/166)	45.2 (75/166)	59.5 (166/279)
Frecuencia por hato	4.7 (14/297)	32.0 (95/297)	21.2 (63/297)	42.0 (125/297)	Total de retornos del hato 59.2 (297/502)
Chi cuadrada	1.44	1.05	0.84	1.48	

Ningún tipo de intervalo de retorno al estro resultó ser diferente entre grupos experimentales ($P > 0.05$).

CUADRO 7

ÁREA BAJO LA CURVA DE PROGESTERONA POR FASES DEL PERÍODO ESTUDIADO DE LAS VACAS: TRATADAS CON rbST Y NO TRATADAS; DE PRIMER SERVICIO Y REPETIDORAS; GESTANTES Y NO GESTANTES.

GRUPO como variable independiente.

GRUPO	n	ÁREA BAJO LA CURVA DE PROGESTERONA ng/ml								
		fase 1 días 1 al 10	Error std.	*Pr > F	fase 2 días 11 al 16	Error std.	*Pr > F	fase 3 días 17 al 21 (sólo vacas no gestantes)	Error std.	**Pr > F
rbST	18	22.55	2.21	} 0.9062	35.67	3.28	} 0.4054	18.46 (n=12)	4.47	} 0.6574
Testigo	18	22.48	2.14		39.18	3.17		16.11 (n=7)	5.85	
1er. Servicio	18	23.83	2.15	} 0.6523	37.56	3.24	} 0.7169			
Repetidoras	18	22.45	2.15		39.23	3.24				
Gestantes	17	22.44	2.25	} 0.9586	38.81	3.33	} 0.5473			
Vacías	19	22.60	2.10		36.03	3.12				

*No fue hallada ninguna evidencia estadísticamente significativa de que el tratamiento, el tipo de vaca o el resultado de la I.A. influyere el área bajo la curva de progesterona en las fases 1 y 2 del período estudiado.

**No se encontró efecto del tratamiento sobre la progesterona producida en la fase 3 del período estudiado.

CUADRO 8

ÁREA BAJO LA CURVA DE PROGESTERONA POR FASES DEL PERÍODO ESTUDIADO
 PARA LAS INTERACCIONES: TRATAMIENTO*TIPO DE VACA; TRATAMIENTO*RESULTADO DE LA I.A.

GRUPO como variable en interacción con el tratamiento.

GRUPO	n	fase 1			fase 2			fase 3				
		n	fase 1 días 1 al 10	Error std.	Pr > F	n	fase 2 días 11 al 16	Error std.	Pr > F	n	fase 3 días 17 al 21	Error std.
Primer servicio	rbST	9	23.97	3.04	0.9783	35.90	4.58	0.9062				
	Testigo	9	23.70	3.04		39.22	4.58					
Repetidoras	rbST	9	22.67	3.04	0.9783	37.03	4.58	0.9062				
	Testigo	9	22.23	3.04		41.44	4.58					
Gestantes	rbST	6	20.25	3.62	0.1584	33.28	5.36	0.1083	29.78	6.32	0.3833	
	Testigo	11	24.63	2.67		44.35	3.96		36.96	4.67		
Vacías	rbST	12	24.86	2.56	0.1584	38.05	3.79	0.1083	18.46	4.47	0.3833	
	Testigo	7	20.34	3.35		34.01	4.97		16.11	5.85		

No se demostró ninguna influencia de las interacciones tratamiento*tipo de vaca o tratamiento*resultado de la I.A. sobre el área bajo la curva de progesterona en ninguna de las fases del periodo estudiadas.

FIGURA A
CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA PLASMÁTICA EN VACAS TRATADAS CON rbST Y TESTIGO.

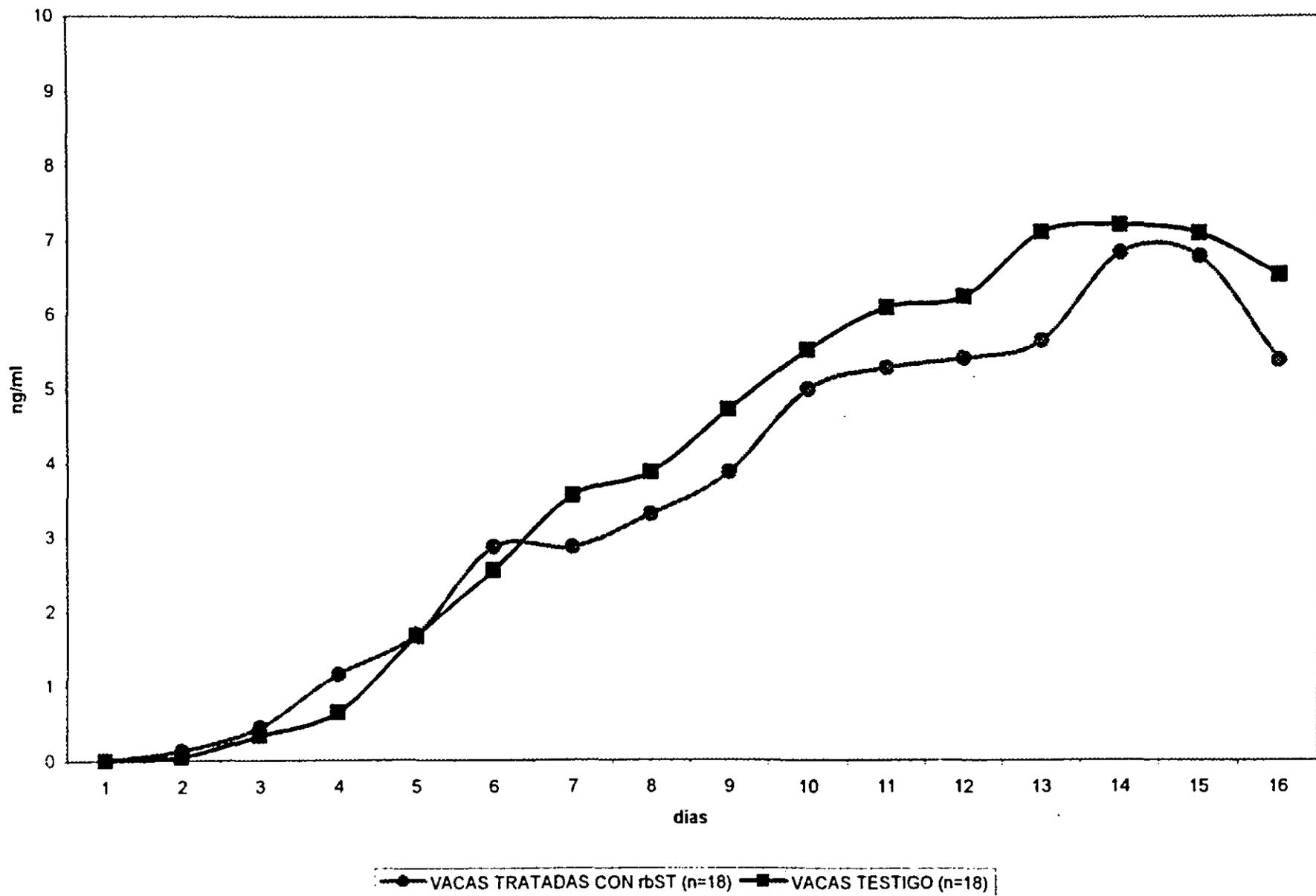


FIGURA B
CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA PLASMÁTICA POR TRATAMIENTO Y TIPO DE VACA

