

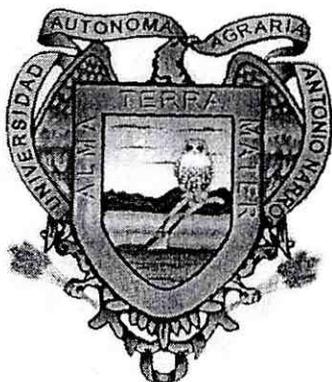
Respuestas en el comportamiento reproductivo de vacas Holstein con dos dosis reducidas de 250 mg de somatotropina bovina durante el protocolo de sincronización del estro

Francisco Rodrigo García Sandoval

Tesis

Presentada como requisito parcial para
obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS



Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna
Subdirección de Postgrado

Torreón, Coahuila, México

Diciembre de 2006

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna
Subdirección de Postgrado

Respuestas en el comportamiento reproductivo de vacas Holstein con dos
dosis reducidas de 250 mg de somatotropina bovina durante el protocolo
de sincronización del estro

Tesis

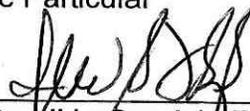
Francisco Rodrigo García Sandoval

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada
como requisito parcial, para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS

Comité Particular

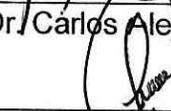
Asesora principal:

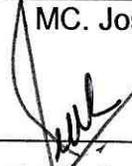

Dra. Ilda Graciela Fernández García

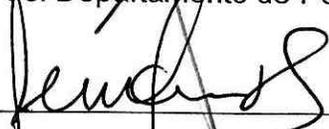
Asesor:


Dr. Carlos Alejandro Elizondo Vázquez

Asesor:


MC. José Ramón Hernández Salgado


M.C. Gerardo Arellano Rodríguez
Jefe del Departamento de Postgrado


Dr. Jerónimo Landeros Flores
Subdirector de Postgrado

AGRADECIMIENTOS

Especialmente a la Dra. Ilda Graciela Fernández García, por su gran apoyo y dedicación para realizar la presente investigación, mil gracias.

Al Dr. Carlos Elizondo A. Vázquez y Dr. Joel Hernández Cerón por el apoyo y dedicación que tuvieron en este trabajo, al MC Ramón Hernández Salgado por su colaboración en los análisis estadísticos.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por darme nuevamente la oportunidad de dar un paso más para mi superación.

Al CONACYT por la beca otorgada para mis estudios.

Al Ing. Carlos Valdés Berlanga propietario del establo "El Compás", al Dr. Gustavo Lastra Durán y al personal del establo quien sin su apoyo no habría sido posible la realización de este trabajo.

A mis maestros del CIRCA, por la amistad y por su enseñanza a los Doctores José Alberto Delgadillo, José Alfredo Flores, Horacio Hernández Hernández, Gerardo Duarte Moreno, Jesús Vielma y Francisco Gerardo Véliz, gracias.

Con gran respeto a los compañeros y amigos que siempre estuvieron para ayudar en el transcurso de mi trabajo de campo, especialmente a Soledad López Vargas por su ayuda en el laboratorio, Ma de los Ángeles De Santiago, Juan Carlos López García, Juan Ramón Luna, Santiago Ramírez, Ángel Mejía, Iván Vélez y Mauricio Venegas por compartir su amistad.

A Ester Peña y a Dolores López por su apoyo secretarial.

DEDICATORIAS

A mis abuelos los señores, Antonio García Miguel y Soledad Mejía con mucho cariño y amor por cuidar de mi cuando era un bebé.

Dedicado con mucho respeto y admiración a mis padres por darme la vida y siempre estar a mi lado y apoyar mis pasos en la vida, Dionisia Sandoval López y Santiago García Mejía.

A mis hermanos, Fely, Marisela, Mardonio, Lucrecia, Gandhi, Antonio y Jonathan gracias por su apoyo en todo momento.

A mis sobrinos, Christian, Irving, Alan, Karen Gysel y Eliot quienes a su corta edad son esenciales, llenando de alegría mi vida.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE CUADROS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
RESUMEN	IX
ABSTRACT	XI
I INTRODUCCIÓN	1
II REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Hormona del crecimiento o somatotropina.....	4
2.1.1 Secreción de la hormona de crecimiento.....	5
2.2 Somatotropina recombinante bovina.....	6
2.2.1 Efectos de la somatotropina recombinante bovina.....	6
2.3 Factores del crecimiento similares a la insulina o somatomedinas.....	7
2.3.1 El IGF-I en la lactancia temprana de la vaca.....	9
2.3.2 Efectos de la bST en la reproducción de la vaca.....	11
2.3.3 Efectos de la bST e IGF-I en la producción láctea.....	12
2.3.4 Efectos de la bST sobre el balance energético negativo.....	13
2.4 Desarrollo folicular.....	14
2.4.1 Folículo preantral.....	16
2.4.2 Folículo antral.....	16
2.4.3 Selección y dominancia de folículos.....	17
2.5 Estrés calórico.....	18
2.5.1 Efectos del estrés calórico.....	18
2.5.2 Efectos del estrés calórico en la fertilidad.....	19
2.5.3 Alternativas para aumentar la fertilidad.....	20
2.5.4 Alternativas para mitigar los efectos del estrés calórico y elevar la fertilidad.....	22
III MATERIALES Y MÉTODOS	24
3.1 Descripción del área de estudio.....	24
3.2 Diseño de la investigación.....	24

3.2.1 Descripción de los animales	24
3.2.2 Alimentación	25
3.2.3 Descripción de los tratamientos	25
3.2.4 Tasas de concepción	27
3.2.5 Días de respuesta estral	27
3.2.6 Muestras plasmáticas para determinar IGF-I y P4.....	28
3.2.7 Condición corporal	28
3.2.8 Producción de leche	29
3.3 Análisis estadístico.....	29
3.3.1 Tasas de concepción	29
3.3.2 Días a respuesta estral.....	30
3.3.3 Niveles plasmáticos de IGF-I, P4, producción de leche y condición corporal.....	30
3.3.4 Tasas de concepción y condición corporal	31
IV RESULTADOS	33
4.1 Tasas de concepción.....	33
4.2 Días a respuesta estral.....	33
4.4 Niveles plasmáticos de P4.....	34
4.5 Condición corporal.....	35
4.6 Relación tasas de concepción y condición corporal.....	36
4.7 Producción láctea.....	37
4.8 Producción láctea de los dos grupos experimentales.....	39
V DISCUSIÓN	40
VI CONCLUSIONES	49
VII LITERATURA CITADA.....	50

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Tasas de concepción, días a respuesta estral en vacas Holstein con dos dosis reducidas de bST, GbST en el día 56 potsparto y en el día de la inseminación artificial.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Protocolos de sincronización del estro y tratamientos de bST..	33
Figura 2. Niveles plasmáticos de IGF-I.....	40
Figura 3. Niveles plasmáticos de P4.....	41
Figura 4. Condición corporal en el día de la IA.....	42
Figura 5. Relación entre tasas de concepción y CC en el día de la IA....	43
Figura 6. Producción de leche del día 56 al 68 pp.....	44
Figura 7. Producción de leche al día por vaca del día 56 al 68 pp.....	45

Respuestas en el comportamiento reproductivo de vacas Holstein con dos dosis reducidas de 250 mg de somatotropina bovina durante el protocolo de sincronización del estro

Francisco Rodrigo García Sandoval

Tesis

Presentada como requisito parcial para
obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS

Asesora principal

Dra. Ilda Graciela Fernández García

RESUMEN

La administración de la hormona del crecimiento bovina (bST) al momento de la inseminación favorece el desarrollo embrionario e incrementa las tasas de concepción. La dosis de bST que se ha utilizado para mejorar la fertilidad es de 500 mg y corresponde a la dosis recomendada para incrementar la producción de leche. Dado que el tratamiento con fines reproductivos no busca un incremento en la producción de leche, cabe la posibilidad de utilizar dosis menores, aplicadas en los procesos fisiológicos más importantes, como durante la maduración del folículo ovulatorio y en el desarrollo embrionario temprano. En este estudio se hipotetizó que dos inyecciones de 250 mg de bST, la primera aplicada 10 días antes de la inseminación y la segunda al momento de la inseminación artificial, elevan las tasas de concepción. Se utilizaron vacas multíparas Holstein-Friesian (n=262), se formaron dos grupos, uno tratado con

somatotropina bovina (GbST n= 108) y otro como testigo (GTES n= 156), todas las vacas fueron sometidas a un protocolo de sincronización con prostaglandinas F2 α y GnRH. Se aplicaron 250 mg de bST en el día 56 postparto, una segunda dosis se aplicó al momento de la inseminación artificial, las vacas de GTES recibieron solución salina fisiológica. Se tomaron muestras sanguíneas para determinar la concentración de IGF-I mediante IRMA. Las tasas de concepción fueron mayores en el grupo GbST (65.7 \pm 4.5) que en el GTES (56.4 \pm 3.9; P< 0.05). Los niveles plasmáticos de IGF-I fueron más altos en el GbST (P<0.01) que en el testigo. La producción de leche también fue mayor en el GbST que en el GTES (P<0.01). Se concluye que dos inyecciones de 250 mg de bST, una administrada 10 días antes de la inseminación y la segunda al momento de la inseminación, elevaron las tasas de concepción en vacas Holstein durante el protocolo de sincronización de estro, lo cual también se asoció con mayores concentraciones plasmáticas de IGF-I.

Palabras clave: vacas Holstein, somatotropina, tasas de concepción, IGF-I.

Responses on reproductive performance in Holstein cows with two low doses of 250 mg of bovine somatotropin during estrus synchronization protocol

Francisco Rodrigo García Sandoval

Thesis

by

Presented as a partial requirement to obtain the degree of

MASTER IN AGRARIAN SCIENCE

Advisor

Dra. Ilda Graciela Fernández García

ABSTRACT

Administration of bovine growth hormone (bST) at the moment of the artificial insemination favors embryonic development and increases conception rates. The bST dose that has been used to improve the fertility is of 500 mg and it corresponds to the recommended dose to increase milk yield. Since the treatment with the reproductive purpose is not administered for incrementing milk yield, there is the possibility to use low doses applied in the most important physiologic processes, such as during the maturation of the ovulatory follicle and early embryonic development. In this study it was hypothesized that two injections of 250 mg of bST, the first applied 10 days before the insemination and the second at the moment of the artificial insemination, would improve conception rates. Multiparous Holstein-Friesian cows were used (n=262), they were divided in two groups, one treated with bovine somatotropine (GbST

n=108) and the other as control (GTES n=156), all cows were subjected to a protocol of oestrus synchronization with prostaglandin F2 α and GnRH. The GbST received 250 mg of bST on day 56 postpartum, a second dose was applied at day of artificial insemination, and GTES cows were treated with physiologic saline solution. Blood samples were obtained to determine IGF-I concentrations through IRMA. Conception rates were higher in GbST (65.7 \pm 4.5) than GTES (56.4 \pm 3.9; P < 0.05). IGF-I plasmatic concentrations of were higher in GbST (P <0.01), than in control group. Milk yield were also higher in GbST than in GTES (P <0.01). It is concluded that two injections of 250 mg of bST, the first administered 10 days before the insemination and the second at the moment of the artificial insemination, improved conception rates in Holstein cows during estrus synchronization protocol, and it was associated also with higher IGF-I plasmatic concentrations.

Keywords: Holstein cows, somatotropine, conception rates, IGF-I

I INTRODUCCIÓN

La fertilidad del ganado lechero ha decrecido en los últimos 40 años a escala mundial, algunos parámetros reproductivos han sido afectados, como las tasas de concepción al primer servicio en vacas en lactación que han disminuido de tal manera que en los años los 60's y 70's eran mayores de 50% y en los 90's han disminuido a valores inferiores a 40%. Dicha reducción puede ser debida a causas multifactoriales (Sartoli *et al.*, 2002), lo cual ha coincidido con el considerable incremento en la producción láctea, que ha variado de 6300 kg de leche por lactación en 1970 hasta los 9000 kg en 1994, lo que demuestra una posible asociación entre ambas variables (Lucy, 2001). La producción de leche por sí misma no disminuye la fertilidad; sin embargo, indirectamente se puede ver afectada por los cambios metabólicos que ocurren cuando la producción alta está unida a un consumo inadecuado de nutrientes (Lucy, 1992).

En la vaca lechera, una proporción elevada de los embriones mueren durante los primeros 16 días de desarrollo. Las causas de las pérdidas embrionarias son de naturaleza diversa y se asocian con factores genéticos, nutricionales, hormonales y ambientales (Wilmot *et al.*, 1986). En las vacas repetidoras, la administración de la hormona del crecimiento bovina (bST) al momento de la inseminación tiene un efecto favorable en el porcentaje de concepción (Morales-Roura *et al.*, 2001). Asimismo, la administración de bST

previa a la inseminación, en vacas de primer servicio bajo protocolos de sincronización de la ovulación e inseminadas a tiempo fijo mejora la fertilidad (Moreira *et al.*, 2000; 2001). El mecanismo de acción por el cual la bST mejora la fertilidad se asocia con los efectos directos e indirectos de esta hormona en los procesos reproductivos. Así, después de la administración de bST se observa un incremento en las concentraciones séricas y uterinas del factor de crecimiento parecido a la insulina tipo I (IGF-I). La bST y el IGF-I favorecen el desarrollo folicular y la maduración del ovocito, en condiciones *in vivo* e *in vitro*, favorecen el desarrollo embrionario temprano (Palma *et al.*, 1997; Rieger *et al.*, 1998; Moreira *et al.*, 2002). Además, el IGF-I actúa como un factor de sobrevivencia embrionaria, ya que disminuye el daño embrionario provocado por factores embriotóxicos (Jousan y Hansen, 2004).

La dosis de bST que se ha utilizado para mejorar la fertilidad es de 500 mg y corresponde a la dosis recomendada para incrementar la producción de leche (Bauman, 1999). Dado que el tratamiento con fines reproductivos no busca un incremento en la producción de leche, cabe la posibilidad de utilizar dosis menores, aplicadas en los procesos fisiológicos más importantes, tales como durante la maduración del folículo ovulatorio y en el desarrollo embrionario temprano (Bilby *et al.*, 1999). Además, un tratamiento con 500 mg de bST alrededor del día 60 postparto podría tener un efecto negativo en algunas vacas, ya que tiene un efecto rápido en la producción de leche, el cual se acompaña de un incremento lento en el consumo de materia seca (Kirby *et*

al., 1997; Bilby *et al.*, 1999), condición que podría agravar el balance energético negativo.

Con base a lo anterior, en este trabajo se establece la hipótesis de que dos inyecciones de 250 mg de bST, una 10 días antes de la inseminación y la segunda al momento de la inseminación elevan las tasas de concepción.

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Hormona del crecimiento o somatotropina

La somatotropina fue identificada por primera vez por Evans y Simpson, quienes demostraron su efecto en el crecimiento en ratas tratadas con un extracto alcalino crudo de la pituitaria. Las ratas a quienes se les inyectó el extracto crecieron más rápido y presentaron proporcionalmente más músculo y menos grasa, por lo que dichos resultados permitieron concluir que la sustancia presente en la glándula pituitaria estimulaba el crecimiento y afectaba la composición de la canal (Evans y Long, 1922; Evans y Simpson, 1931).

La hormona del crecimiento es una hormona polipeptídica de una sola cadena compuesta por 191 aminoácidos, con un peso molecular de 22,000 daltones, es sintetizada y secretada en la glándula pituitaria anterior (Martinet *et al.*, 1999). La hormona del crecimiento (GH), también conocida como somatotropina (bST), tiene un gen que codifica proteínas que se expresan en las células somatotrópicas de la adenohipófisis, otros autores consideran que también se expresa en el tejido de la placenta (Adashy *et al.*, 1996).

La hormona de crecimiento posee una estructura tridimensional que consiste de cuatro hélices α y regiones adyacentes de polipéptidos no helicoidales, cada molécula bivalente contiene dos sitios separados (sitio 1 y

sitio 2) que se unen a diferentes receptores de bST. La bST se une a la proteína ligadora (dominio extracelular del receptor) en una proporción 1:2 molar (Staten *et al.*, 1993).

2.1.1 Secreción de la hormona de crecimiento

La GH es liberada de la adenohipófisis debido a un incremento en los niveles del adenosín monofosfato cíclico (cAMP), es activada mediante la proteína kinasa C (PKC) y a su vez es controlada principalmente por dos hormonas hipotálamicas: la hormona liberadora de hormona del crecimiento (GHRH) y la somatostatina (SRIF) (Tuggle y Trenkle, 1996).

La GHRH estimula la liberación de la GH y la SRIF, que a su vez pueden inhibir su secreción; la dopamina y la noradrenalina ayudan a elevar la secreción de la GH que está relacionada con el sueño, teniendo incrementos en la noche, tanto en la frecuencia como en su amplitud. Un incremento de GH nocturno puede relacionarse con el estrés de corto plazo, por privación de alimentación o por la edad. En mamíferos el estrés induce a la liberación de glucocorticoides, los cuales incrementan la secreción de la bST y una disminución de la SRIF (Harvey *et al.*, 1995). Aunque también existen en las células de la adenohipófisis otros neurotransmisores que poseen acción inhibitoria y excitatoria (Kato *et al.*, 2004).

2.2 Somatotropina recombinante bovina

La cantidad de alimentos requerida para cubrir las necesidades de la población mundial ha propiciado el desarrollo de nuevas tecnologías para incrementar la eficiencia en la producción de alimentos. En el contexto de la producción animal, la administración de somatotropina exógena es una biotecnología que aumenta la producción de leche y carne. El beneficio de la somatotropina incluye un impacto positivo en el medio ambiente ya que se tiene una disminución en el gasto de productos e insumos como fertilizantes, forrajes, y alimentación de animales por más tiempo que el programado (Johnson *et al.*, 1992).

2.2.1 Efectos de la somatotropina recombinante bovina

Otro aspecto positivo de la bST es que reduce el contenido de grasa en la carne fresca, ya que se ha demostrado que esta hormona modifica la utilización de nutrimentos durante el crecimiento del animal, de manera que disminuye la grasa en la canal. Además, existe la certeza que ciertos ácidos grasos saturados (ácidos mirístico y palmítico), encontrados en la grasa animal, elevan las lipoproteínas de baja densidad (colesterol) lo cual aumenta el riesgo de enfermedades cardíacas (Kris-Etherton *et al.*, 1988).

Fue en 1970 cuando la somatotropina se produjo mediante la tecnología del DNA recombinante. Diversos estudios realizados en cultivos celulares y en

modelos de animales de laboratorio permitieron reconocer que la somatotropina tenía efecto de manera directa e indirecta sobre el crecimiento y el metabolismo. Los efectos indirectos son mediados por las somatomedinas, principalmente por el sistema de los factores de crecimiento parecido a la insulina tipo I y II (IGF's) (Etherton, 2004).

2.3 Factores del crecimiento similares a la insulina o somatomedinas

El sistema IGF es complejo, consiste en dos ligandos (IGF-I y II), dos receptores (tipo 1 y 2), seis proteínas ligadoras a IGF (GFBP-1, 2, 3, 4, 5 y 6), y al menos una proteína ligadora IGF a proteasas (Spicer *et al.*, 1995). Los factores de crecimiento participan en varios procesos biológicos, tales como el crecimiento pre y postnatal, lactación, reproducción y en la función inmune.

La bST tiene efecto en diferentes tejidos y órganos, ya que sin ser una hormona gonadotrópica, participa en las funciones reproductivas, como el desarrollo folicular y en funciones del cuerpo lúteo (Hernández y Díaz, 2003). La GH estimula en el hígado la síntesis de IGF-I y IGF-II (Butler *et al.*, 2003; Rhoads *et al.*, 2004).

El IGF-I es un péptido de 70 aminoácidos y el IGF-II está formado por 67 aminoácidos (Daughaday y Rotwein, 1989). Las somatomedinas han sido detectadas en todos los fluidos biológicos de numerosas especies, por ejemplo, en el bovino se ha demostrado en el calostro y la leche contiene el IGF-I e IGF-

II (Malven *et al.*, 1987). También el IGF-I se ha detectado en el fluido folicular bovino (Spicer *et al.*, 1988).

Tanto el IGF-I como el IGF-II promueven la proliferación y la diferenciación celular; así mismo tienen un efecto anabólico agudo sobre las proteínas y el metabolismo de los carbohidratos. El IGF-I e IGF-II se expresan en el útero del bovino y en el *conceptus* (embrión y sus membranas), en el fluido luminal uterino ovino y durante el periodo de pre-implantación. Durante este tiempo el embrión es dependiente de las secreciones glandulares maternas para todos sus requerimientos metabólicos (Kirby *et al.*, 1996; Robinson *et al.*, 2000). En el día 12 el embrión comienza a elongarse, lo cual se asocia con la producción de la hormona anti-luteolítica (interferón- τ) (Farin *et al.*, 1990). Se ha demostrado *in vitro* que el IGF-I e IGF-II estimulan la producción embrionaria de interferón- τ (Ko *et al.*, 1991).

Robinson *et al.* (2000) determinaron los patrones de expresión de algunos miembros del sistema de los IGF's en el útero de bovinos durante el ciclo estral y la preñez temprana; dichos factores fueron localizados en diferentes tipos celulares en el endometrio y su expresión fue influida por la etapa del ciclo estral y por la presencia del embrión. En el endometrio del bovino, la expresión más fuerte de mRNA para IGF-I se observó en el epitelio luminal. La expresión de mRNA para IGF-I en ésta región puede activar o estimular la diferenciación embrionaria. Los autores referidos demostraron que

la expresión de mRNA para IGF-I en el estroma sub-epitelial, fue más evidente cerca del día del estro y más bajo al inicio y al final de la fase lútea, con un pico bajo en el día 10.

Por otra parte se ha encontrado que el IGF-I hace sinergia con la FSH para promover la producción de estradiol, por lo que se cree que tiene un papel esencial en las últimas etapas del desarrollo folicular (Baker *et al.*, 1996).

2.3.1 El IGF-I en la lactancia temprana de la vaca

El periodo de lactancia temprana en el ganado lechero es caracterizado por un prolongado balance energético negativo (BEN), donde el consumo de alimento no es suficiente para cubrir las necesidades de producción. El déficit permanece en promedio al menos 60 días, debido a que la alta producción láctea se incrementa y el consumo de energía es limitado (Butler *et al.*, 2003). Durante este tiempo el hígado llega a ser refractario a la hormona de crecimiento (Vicini *et al.*, 1991), por lo cual las concentraciones circulantes de IGF-I se reducen dramáticamente. La disminución en el IGF-I inicia dos semanas después del parto, paralelamente declina con la insulina plasmática. Los cambios plasmáticos de la hormona de crecimiento en el mismo periodo son opuestos al del IGF-I y a la insulina. La incapacidad de la hormona de crecimiento para estimular la producción de IGF-I hepático durante el BEN se denomina "resistencia a la hormona de crecimiento". Sin embargo, se ha establecido que una concentración hepática del receptor de la hormona de

crecimiento es positivamente correlacionada con el IGF-I plasmático y así como con el nivel de nutrición, por lo que la concentración de GHR puede ser el mecanismo regulador principal en el eje IGF-GH (Martinet *et al.*, 1999; Butler *et al.*, 2003).

El reinicio de la ciclicidad ovárica, después del el parto, se relaciona estrechamente con el BEN (Butler *et al.*, 1981). Las vías fisiológicas mediante las cuales el eje hipotálamo-hipófisis-ovarios es informado del estado energético del animal, es complejo y participan algunos metabolitos y hormonas, como la hormona de crecimiento, IGF-I, insulina, hormona tiroides y leptina (Meikle *et al.*, 2004).

El efecto del BEN sobre el reinicio de la ovulación es mediado por la secreción de IGF-I. Aunque las concentraciones de la hormona de crecimiento generalmente son altas al inicio en la lactancia temprana, la producción intrahepática IGF-I disminuye (Spicer *et al.*, 1990). Beam y Butler (1998) indican que concentraciones bajas de insulina e IGF-I son señales metabólicas que retrasan la ovulación. En una investigación realizada por Meikle *et al.* (2004), se observó que las vacas con el mejor comportamiento reproductivo tuvieron concentraciones altas de IGF-I y leptina. De igual manera, se ha observado una relación negativa entre las concentraciones de IGF-I después del parto y el intervalo en el reinicio de la ciclicidad ovárica (Butler, 2000).

2.3.2 Efectos de la bST en la reproducción de la vaca

La administración subcutánea de bST induce un incremento en las concentraciones séricas y uterinas de IGF-I, lo cual favorece el desarrollo embrionario temprano (Palma *et al.*, 1997; Rieger *et al.*, 1998). Además, el IGF-I actúa como un factor de supervivencia embrionaria al disminuir el daño provocado por factores embriotóxicos (Jousan y Hansen, 2004).

La dosis de bST que se ha utilizado comúnmente para incrementar la producción de leche es de 500 mg cada 14 días iniciando alrededor del día 60 postparto (Bauman, 1999, Gulay *et al.*, 2003). Sin embargo, un tratamiento con 500 mg de bST alrededor del día 60 postparto puede tener un resultado negativo en la fertilidad ya que provoca una respuesta rápida en la producción de leche, la cual se acompaña de un incremento lento en el consumo de materia seca (Kirby *et al.*, 1997; Bilby *et al.*, 1999).

En trabajos realizados por Morales-Roura *et al.* (2001) se observó que con el tratamiento con bST el día del estro mejoró la fertilidad en vacas repetidoras. Por su parte Gulay *et al.* (2003; 2004) evaluaron la respuesta con dosis bajas de bST en el preparto y en el postparto en vacas Holstein, los resultados indican cambios en las concentraciones de hormonas metabólicas, lo que se asoció con tasas de concepción más elevadas.

El efecto de la bST en el ovario puede ser directo o indirecto, este último es mediado por los IGF-I sintetizados en el mismo folículo o en el hígado. Los receptores a bST e IGF-I se localizan en diferentes lugares del folículo, específicamente en las células de la granulosa y de la teca interna (Spicer y Echterkamp, 1995; Izadyar *et al* 1997). En las vacas tratadas con bST se observa un incremento en el número de folículos de 6 a 10 mm de diámetro y un aumento en el diámetro de los folículos subordinados que son los que pueden alcanzar el estado de dominancia (De la Sota *et al.*, 1993).

En el cuerpo lúteo, la bST estimula la síntesis de progesterona debido a que las células grandes tienen receptores a esta hormona (Lucy *et al.*, 1995). En condiciones *in vitro*, se ha observado que la adición de IGF-I al cultivo de células lúteas incrementa la síntesis de progesterona (Einspanier *et al.*, 1990).

El ovocito tiene receptores para la bST. Se ha observado que el tratamiento con bST favorece la maduración nuclear, además puede incrementar la tasa de fertilización (Izadyar *et al.*, 1996; 1998).

2.3.3 Efectos de la bST e IGF-I en la producción láctea

La bST estimula en el hígado la síntesis del IGF-I, la cual tiene el papel más importante de la somatotropina en diferentes tejidos. Esta hormona provoca en las células de la glándula mamaria un incremento en la captación de

lípidos y carbohidratos, lo que resulta en un incremento de la secreción de grasa, proteína y lactosa (Gallo y Block, 1990), además aumenta el flujo sanguíneo en el tejido mamario, lo que favorece la captación de precursores para la síntesis de leche (Bauman, 1999). La bST estimula la gluconeogénesis y disminuye la captación celular y la oxidación de la glucosa al antagonizar el efecto de la insulina, también provoca movilización de reservas de grasa, ocasionando un incremento en la circulación de ácidos grasos no esterificados (Renaville *et al.*, 2002).

2.3.4 Efectos de la bST sobre el balance energético negativo

Cuando se aplica bST el día 60 postparto se observa un incremento en la producción láctea (Bauman, 1992; Gulay *et al.*, 2003). Sin embargo, algunos autores opinan que el incremento en la producción de leche está asociado con una reducción del desempeño reproductivo, dado que algunas vacas tratadas con bST muestran signos menos visibles de estro, mayores días abiertos y menores concentraciones plasmáticas de LH, así como alteraciones en las funciones del ovario. Algunos de estos efectos pueden ser provocados por la agudización del balance energético negativo en vacas de alta producción láctea (Kirby *et al.*, 1997; Kassa *et al.*, 2002). Durante la lactancia temprana el alimento consumido por las vacas no es suficiente para cubrir su incremento en la demanda energética debido a una alta producción de leche, cayendo en un

BEN, el cual retrasa el inicio de la actividad ovárica postparto (Butler y Smith, 1989; Moallem *et al.*, 1997).

2.4 Desarrollo folicular

La productividad en las especies domésticas es controlada por varios factores incluyendo la tasa de ovulación. La tasa ovulatoria es un factor que determina la eficiencia reproductiva. El proceso de reclutamiento y selección permite el desarrollo de un número de folículos ovulatorios, los cuales son específicos para una especie y raza. El reclutamiento produce un "pool" de folículos de los cuales uno o más folículos preovulatorios son seleccionados. Una vez seleccionados, él o los folículos llegan a ser dominantes y progresan hacia la ovulación, mientras que los folículos subordinados sufren atresia. Este reclutamiento y selección están coordinados y regulados mediante mecanismos endocrinos y paracrinós, donde participan numerosos factores de crecimiento y otros factores producidos localmente (Hunter *et al.*, 2004).

Fortune *et al.* (2004) argumentan que la etapa del desarrollo folicular puede depender de cambios en el microambiente en el crecimiento del folículo. El ovario como reservorio de folículos primordiales se agota gradual y regularmente, el resto sale del "pool" e inicia su crecimiento. Las señales que inician el crecimiento aún no son del todo comprendidas, aún más, no se entiende cómo es regulado éste proceso, por ejemplo, cómo un folículo individual "sabe" que es el momento de iniciar su crecimiento. La activación del

folículo puede ser controlada por un balance entre factores (permisivos), estimulantes e inhibidores.

El crecimiento folicular es caracterizado por un patrón de ondas foliculares, con dos o tres ondas durante el curso normal del ciclo estral en la vaca. Una onda folicular se caracteriza por una sincronía en un grupo de folículos (5 mm de diámetro); conforme la onda progresa, uno de los miembros del grupo es seleccionado y llega a ser el folículo dominante y el resto del grupo sufre atresia (folículos subordinados). La selección es el proceso que resulta en la disminución del folículo y termina cuando éste ha sido seleccionado, lo cual coincide con una disminución en las concentraciones plasmáticas de FSH y un aumento de LH. Aunque todos los folículos dominantes son capaces de ser ovulados, esa habilidad es dirigida por el medio ambiente hormonal. La progesterona evita la ovulación del folículo dominante que madura durante la fase lútea, lo cual ocurre mediante la retroalimentación negativa sobre la LH. Los folículos dominantes que se desarrollan bajo esas condiciones regresan como folículos subordinados. Una vez que la concentración de progesterona decrece, se incrementa la frecuencia pulsátil lo que resulta en la maduración final del folículo y la ovulación. (Evans, 2003; Evans y Canty, 2004; Fortune *et al.*, 2004).

2.4.1 Folículo preantral

El mecanismo que regula el crecimiento del folículo primordial probablemente depende de la interacción y secreción de factores locales, como el IGFs; Sin embargo, en esta etapa el papel de las gonadotropinas no es claro (Hunter *et al.*, 2004).

El receptor de FSH (FSHr) puede ser detectado en el folículo propiamente con una o dos capas de las células de la granulosa. En otros estudios se ha observado que la FSH puede acelerar el desarrollo de los folículos preantrales. El papel de la LH, el desarrollo temprano no puede describirse a través de la expresión del receptor de LH (LHr), ya que es detectado primero cuando la teca interna se forma alrededor de la células de la granulosa. La producción local de otros factores es importante para este desarrollo temprano. En estudios recientes se ha demostrado que las células de la granulosa del folículo pre-antral expresan tanto el mRNA como proteínas de unión a IGF-I (IGFBR) tipo I y tipo II (Webb *et al.*, 2004).

2.4.2 Folículo antral

El estado tardío del desarrollo del folículo antral en vacas es caracterizado por oleadas foliculares durante cada ciclo estral. Las oleadas aparecen previas a la pubertad y al periodo de anestro, cada oleada y crecimiento en las vacas está acompañada por el reclutamiento de un grupo de

folículos, posteriormente un folículo es seleccionado para su continuo crecimiento y se convierte en dominante (Webb *et al.*, 2004).

El crecimiento del folículo antral (2 mm de diámetro), está bajo el control gonadotrópico (Campbell *et al.*, 1995). Cuando el folículo alcanza un diámetro de 8 a 10 mm se vuelve dependiente de la LH, ya que en este momento desarrolla receptores para esta hormona en las células de la granulosa (Hunter *et al.*, 2004). Cada oleada y crecimiento folicular son controlados por el incremento de FSH (Evans, 2003).

2.4.3 Selección y dominancia de folículos

Se ha sugerido que la disminución de la secreción de la FSH posterior a la emergencia de la oleada folicular puede ser la clave del mecanismo de la selección del folículo. Todos los folículos reclutados parecen contribuir al inicio de la disminución de la FSH, el folículo superior tiene el papel principal en el futuro de la declinación de las concentraciones de FSH, y de los bajos niveles que se requieren para mantener la continuidad del crecimiento del grupo de folículos pequeños. El estradiol y la inhibina producidos por el folículo dominante suprimen la secreción de FSH (Webb *et al.*, 1999). Durante el ciclo estral, el folículo dominante en la vaca alcanza un diámetro de 10-20 mm y el folículo subordinado un máximo de 8 mm (Evans, 2003).

2.5 Estrés calórico

El estrés calórico se presenta cuando se combinan condiciones medioambientales que causan que la temperatura ambiental se encuentre por arriba de la zona termoneutral del animal (Armstrong, 1994). Si las temperaturas externas exceden los 27 C° aunque con humedad relativa elevada, la temperatura efectiva está por arriba de la zona de confort de las vacas. Existen otros factores medioambientales que influyen, como la temperatura del aire, la humedad relativa, el movimiento del aire y la radiación solar. El índice de humedad y la temperatura (THI) normalmente se usa para indicar el grado de estrés en el ganado lechero, cuando el THI excede el valor de 72% las vacas se encuentran afectadas (Fuquay, 1981).

El estrés calórico en el verano reduce la eficiencia productiva y reproductiva, este impacto en la reproducción está bien documentado en vacas lecheras (Hansen y Aréchiga, 1999; Jordan, 2003).

2. 5. 1 Efectos del estrés calórico

Las neuronas sensibles a la temperatura están localizadas a través del cuerpo de los animales y canalizan su información al hipotálamo. El hipotálamo recibe la información, la integra y la traduce en cambios fisiológicos, anatómicos y de comportamiento, los cuales sirven para mantener un balance de calor aceptable (Du Preez, 2000).

El incremento de la temperatura corporal causado por el estrés calórico tiene consecuencias adversas y directas sobre la función celular (Hansen y Aréchiga, 1999).

Las vacas lecheras que están bajo condiciones de estrés calórico responden de diferentes maneras para disminuir el efecto del estrés, por ejemplo, reducen el consumo de alimento, se aumenta el consumo de agua, se modifica la tasa metabólica, así como los requerimientos nutricionales, también se incrementa la pérdida de agua por evaporación, se aumenta la frecuencia respiratoria, se presentan cambios en la concentración de hormonas en sangre, y en consecuencia se incrementa la temperatura corporal. Las vacas altas productoras y multíparas son más susceptibles a padecer estrés calórico (Armstrong, 1994).

2. 5. 2 Efectos del estrés calórico en la fertilidad

El estrés interrumpe el estado fisiológico del animal teniendo consecuencias directamente adversas a las células (Hansen y Aréchiga 1999), estos factores estresantes reducen la fertilidad por alterar los mecanismos que regulan los tiempos precisos durante la fase folicular. En general el estrés agudo o crónico disminuye la secreción de gonadotropinas, que puede ser consecuencia de la reducción de la actividad hipotalámica o por la disminución de la pituitaria (Conn y Freeman 2000; Daley *et al.*, 2000). Teniendo efectos negativos sobre la duración del estro, sobre las tasas de concepción, sobre la

función uterina, en el crecimiento y en el desarrollo folicular, en los mecanismos luteolíticos, en el desarrollo embrionario temprano y en el crecimiento fetal.

El estrés altera el desarrollo folicular por reducción de hormonas esteroides, tal cambio de concentraciones de esteroides en el folículo podría interrumpir el crecimiento del ovocito, reducir el crecimiento y la dominancia folicular (Al-Katanani, *et al.*, 2002; Roth *et al.*, 2002).

2. 5.3 Alternativas para aumentar la fertilidad

En los años 60's se desarrollaron los primeros métodos de sincronización del estro que bloquean la ovulación mediante la administración de progesterona exógena, posteriormente el descubrimiento de la PGF 2 α condujo al desarrollo de nuevos métodos de sincronización en los 70's. Los progestágenos y la PGF 2 α se combinaron para elevar las tasas de concepción, pero a pesar de ello, continuaron bajos los parámetros reproductivos. Un posible agente causal de la baja fertilidad se atribuye al fenómeno de folículo dominante persistente, provocado por la aplicación de progestágenos, ya que pueden causar cambios ultra estructurales del ovocito en las vacas tratadas (Lucy *et al.*, 2004).

En años recientes la tecnología de la reproducción en los mamíferos se ha enfocado en aumentar la fertilidad; sin embargo, a pesar del progreso de

diferentes métodos como la sincronización del estro y la inseminación artificial, el desempeño reproductivo de las vacas lecheras no ha mejorado sustancialmente (Lopez-Gatius, 2003), ya que ha aumentado la incidencia de desórdenes reproductivos de las vacas lecheras. Por lo que en la actualidad existe mayor necesidad para encontrar nuevas herramientas en el manejo de la reproducción bovina (Lucy *et al.*, 2004).

Anteriormente los sistemas de sincronización del estro estaban fundamentados en el entendimiento de la biología básica de la dinámica del folículo en el ovario y en la lisis del cuerpo lúteo (Thatcher *et al.*, 1997), de tal manera que las hormonas utilizadas en la actualidad para controlar el ciclo estral, farmacológicamente son iguales o análogas de las hormonas reproductivas del hipotálamo, del ovario y del útero del ganado (Lucy *et al.*, 2004). Es evidente que los tratamientos hormonales que inducen al estro y a la ovulación tienen un efecto benéfico sobre el mejoramiento reproductivo de los hatos (Alnimer *et al.*, 2002). Otro aspecto que se debe de mencionar es la transferencia de embriones producidos en la época fresca del año, a vacas durante el estrés calórico, ya que también elevan las tasas de concepción (Jordan, 2003).

2.5.4 Alternativas para mitigar los efectos del estrés calórico y elevar la fertilidad

Se han implementado distintas estrategias para incrementar la producción de vacas lecheras en climas cálidos (Hansen y Aréchiga 1999). Como el desarrollo genético de razas menos sensibles al calor, la alimentación, métodos de la modificación del medioambiente, así como sombras para reducir el efecto del estrés calórico en el ganado lechero (Armstrong, 1994).

El enfriamiento corporal es una de las técnicas más comunes para aminorar los efectos del estrés calórico, por medio de la provisión de sombras, ventiladores, rociadores, o sistemas de enfriamiento evaporativo (Jordan, 2003); Sin embargo, los distintos métodos de enfriamiento utilizados en los establos no han sido capaces de mejorar la fertilidad sustancialmente, y las tasas de concepción de vacas lactantes en el verano continúan siendo bajas (Wolfenson *et al.*, 2000).

Otros de los métodos para mitigar los efectos del estrés calórico sobre las tasas de concepción podría ser la transferencia de embriones colectados en la época sin estrés calórico. Aunque la transferencia de embriones de buena calidad parece ser una estrategia para aumentar la fertilidad durante el verano, los problemas no dejan de estar presentes. Durante el periodo de estrés, el número de embriones producidos después de la superovulación puede ser

reducido como resultado de una pobre respuesta a la terapia hormonal y a un aumento de la muerte embrionaria temprana (Jordan, 2003).

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción del área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el establo "El Compás", ubicado en la carretera Gómez Palacio Gregorio García km 16.5, en Gómez Palacio, Durango. Esta localidad forma parte de la Comarca Lagunera, la cual está situada a una latitud de 26° Norte, longitud 102° y 104° Oeste, con una altitud de 1400 metros sobre el nivel del mar. La precipitación pluvial anual promedio es de 200 a 250 mm. El clima se considera seco extremo, con una temperatura media anual de 23.4 °C. (CONAGUA, 2005).

3.2 Diseño de la investigación

3.2.1 Descripción de los animales

Se utilizaron vacas multíparas Holstein-Friesian (n=262) de primer servicio, con una condición corporal promedio de 3, de acuerdo a la escala 1 delgada y 5 obesa (Ferguson *et al.*, 1994; Ruegg y Milton, 1995) con un promedio de 80 días en leche, y una producción promedio de 32 l/vaca/día en dos ordeñas, se seleccionaron animales sin patologías del aparato reproductor.

La IA se realizó con semen procedente de sementales de fertilidad probada.

El trabajo de campo se realizó de julio de 2004 a abril de 2005, los animales estuvieron estabulados en corrales, los cuales cuentan con sombras tipo nave.

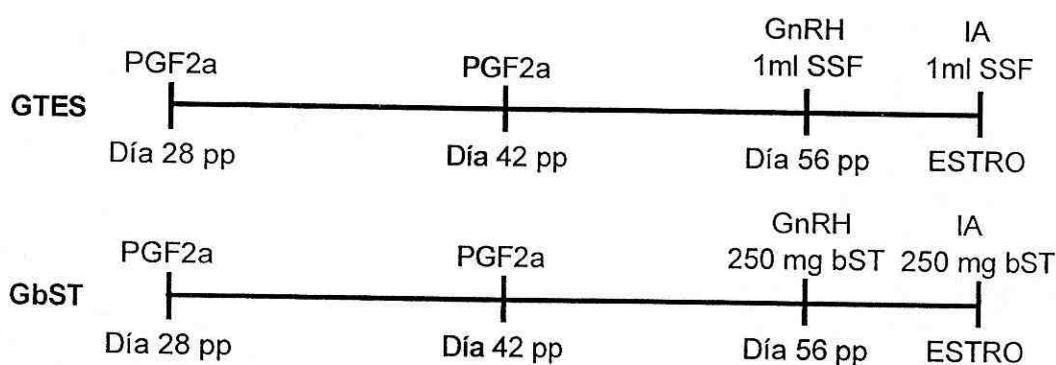
3.2.2 Alimentación

Los animales estuvieron bajo el mismo manejo y recibieron una alimentación a libre acceso con una proporción de forraje/concentrado de 48.5 / 51.5, respectivamente, el alimento se proporcionó por la mañana, tarde y noche, siendo igual para los dos grupos experimentales y se formuló de acuerdo a sus requerimientos nutricionales del National Research Council (NRC). La dieta estuvo constituida por remolacha (7.85%), semilla de algodón (5.24%), premezcla (10.47%), maíz roado (17.54%), alfalfa heno (10.47%), ensilaje de maíz (54.81%) y agua (2.64%). El agua y las sales minerales fueron proporcionadas a libre acceso.

3.2.3 Descripción de los tratamientos

Las vacas fueron sincronizadas de acuerdo al protocolo del establo, los animales experimentales se conformaron de la siguiente manera, un grupo (n=108; GbST) recibió en el día 28 postparto (PP) una inyección de PGF2 α (Prosolvín C Intervet, 375 mg vía i.m.), se volvió a inyectar la misma dosis en el

día 42 PP, posteriormente, en el día 56 PP las vacas recibieron GnRH (Fertagyl, Intervet, 2 mg por vía i.m.), simultáneamente se les aplicó una primera dosis de 250 mg de bST (Lactotropina, Monsanto), por vía subcutánea, estos animales recibieron una segunda dosis de 250 mg bST al momento de la IA, como lo indica la Figura 1. A las del vacas testigo (n=154; GTES), no se les administró bST y recibieron 1ml de solución salina fisiológica como placebo al día 56 postparto y al momento del IA, y también recibieron la misma aplicación de PGF2 α y GnRH que las vacas del otro grupo.



PGF2 α = prostaglandina F2 α
 GnRH = hormona liberadora de gonadotropinas
 bST = somatotropina
 IA = inseminación artificial
 SSF = solución salina fisiológica

Figura 1. Protocolos de sincronización del estro y tratamientos de bST.

3.2.4 Tasas de concepción

En este trabajo las tasas de concepción se definen como el porcentaje de vacas gestantes del total de vacas inseminadas.

Las vacas que no retornaron al estro fueron revisadas mediante palpación rectal en el día 45 ± 3 para el diagnóstico de preñez.

3.2.5 Días de respuesta estral

En la detección de estro se empleó el sistema automático de podómetros (Nedat, Westfalia), que registra la alta y prolongada actividad física del animal indicando estro, los registros se hicieron dos veces al día, cuando las vacas entraban a la sala de ordeño, esta información se envió a la computadora, además se realizaron observaciones visuales por una persona experimentada en esta práctica.

El criterio utilizado para la inseminación artificial, fue por las lecturas de los podómetros y del el personal que detecta los estros, además todas las vacas fueron sometidas a un examen por palpación rectal previo a la IA.

3.2.6 Muestras plasmáticas para determinar IGF-I y P4

La colección sanguínea para determinar el factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I) y progesterona (P4), se realizó después de seleccionar 20 vacas, 10 vacas del grupo testigo y 10 vacas del grupo tratado con bST. La muestra de sangre se obtuvo de la vena coccígea mediante venopunción en tubos Vacutainer de 5.0 ml con 40.0 μ l con anticoagulante EDTA. Las muestras se colectaron durante los días 56, 58, 60, 62, 64, 66 y 68 postparto.

Después de la obtención, las muestras se centrifugaron a 3000 rpm, durante 30 minutos. Posteriormente, se separó el suero, el cual se conservó en refrigeración a 4 °C.

Se determinaron las concentraciones IGF-I mediante un ensayo inmunoradiométrico (IRMA) (León *et al.*, 2004). Las concentraciones de progesterona se determinaron mediante radioinmunoanálisis (RIA).

3.2.7 Condición corporal

Para realizar esta evaluación, se calificaron determinadas áreas anatómicas de la pelvis y del lomo, del animal. A partir de estas observaciones se emitió un puntaje (Ferguson *et al.*, 1994; Ruegg y Milton, 1995). Esta variable se evaluó en tres periodos, 15 días antes, en el día de la IA y 15 días después.

3.2.8 Producción de leche

Las mediciones de la producción láctea de las vacas experimentales fueron de manera automática por la máquina de ordeña. Se registraron del día 56 al 68 de lactancia.

Las vacas se ordeñaron dos veces al día con un intervalo de aproximadamente 12:00 h, la primera ordeña fue a las 04:00 h y la segunda fue a las 16:00 h.

3.3 Análisis estadístico

Se utilizó un diseño de mediciones completamente al azar, donde las vacas fueron asignadas en forma aleatoria a cada uno de los tratamientos. Las variables: tasas de concepción, días a respuesta estral, niveles plasmáticos de IGF-I, P4, producción de leche, condición corporal, y la relación entre tasas de concepción y condición corporal, fueron analizadas con el programa estadístico SAS (Versión 6.1, 1996)

3.3.1 Tasas de concepción

Se analizaron mediante un modelo de regresión logística.

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 \text{Tratamiento}$$

Donde:

Y_{ij} : Medición del estado de gestación (si-no)

β_0 y β_1 : parámetros de regresión logística

T_i : efecto del nivel de tratamiento (Sin bST, con bST)

Formula para obtener las tasas de gestación por nivel de tratamiento.

$$P(Y=1) = \frac{1}{1 + e^{-(\beta_0 + \beta_1 T_{tra})}}$$

$P(Y=1)$: La probabilidad de encontrar vaca en estado de gestación.

3.3.2 Días a respuesta estral

Se realizó un diseño experimental completamente al azar.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : Medición de días de respuesta estral

μ : media general

T_i : efecto del i -ésimo nivel de dosis de bST

E_{ij} : error experimental, donde $\varepsilon_{ij} > \text{NID}(0, \sigma_e^2)$

3.3.3 Niveles plasmáticos de IGF-I, P4, producción de leche y condición corporal.

Para estas variables se considero el diseño completamente al azar que se planteo al empezar el experimento, considerando que estas variables fueron

medidas en tiempos sucesivos se analizó considerando el modelo estadístico completamente al azar con mediciones repetidas en el tiempo, correspondiendo el modelo que se describe a continuación.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + V_{j(i)} + P_k + TP_{ik} + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ij} : Niveles plasmáticos de IGF-I, P4, producción de leche y condición corporal

μ : media general

T_i : efecto del nivel de dosis de bST

$V_{j(i)}$: efecto del j-esimo nivel de dosis de bST en cada vaca

P_k : efecto del k-esimo periodo de medición

TP_{ik} : efecto de interacción del nivel de dosis de bST con el periodo de medición

E_{ijk} : error aleatorio $\epsilon_{ijk} > \text{NID}(0, \sigma_e^2)$

3.3.4 Tasas de concepción y condición corporal

Por la naturaleza de la variable (cualitativa) se emplea la técnica de análisis de regresión logística. Donde el modelo se describe a continuación:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 (C_i)$$

Donde:

Y_{ij} : Medición del estado de gestación (si-no)

β_0 y β_1 : parámetros de regresión logística

C_i : efecto del nivel de condición corporal

Fórmula para obtener las tasas de gestación por nivel de condición corporal

$$P(Y=1) = \frac{1}{1 + e^{-(\beta_0 + \beta_1 C_i)}}$$

$P(Y=1)$: La probabilidad de encontrar vaca en estado de gestación

IV RESULTADOS

4.1 Tasas de concepción

Las tasas de concepción fueron 9.28% ($P < 0.05$) más altas en las vacas tratadas con bST en comparación a las del grupo testigo (Cuadro 1).

4.2 Días a respuesta estral

En lo que se refiere a la respuesta estral, ambos grupos fueron diferentes ($P < 0.01$), ya que las vacas del GbST manifestaron estro a los 67 días postparto en promedio y el grupo de vacas que no recibieron GbST lo presentaron 6.6 días más tarde (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tasas de concepción y días de respuesta estral en vacas Holstein sincronizadas en un protocolo de sincronización de estro tratadas con dos dosis reducidas (250mg/vaca) de bST en el día 56 postparto y en el día de la inseminación artificial.

Grupos	n	Gestantes/ vacías	Tasas de concepción % (\pm Error estándar)	Días a respuesta estral
GTES	154	87/67	56.49 (± 3.97) *	73.8 **
GbST	108	71/37	65.77 (± 4.57) *	67.2 **

* $P < 0.05$ (Chi-cuadrada de Wald= 3.017)

** ($P < 0.01$)

4.3 Niveles plasmáticos de IGF-I

En la Figura 2 se observan las concentraciones plasmáticas de IGF-I de los animales a los que se hizo un muestreo. Con la aplicación de bST, las concentraciones fueron elevadas ($P < 0.01$) en GbST en el día 57 postparto, posteriormente disminuyó en los siguientes días, en el día 62 postparto también se encontraron diferencias ($P < 0.05$) para GbST; las concentraciones en GTES no mostraron incremento durante el tiempo del muestreo.

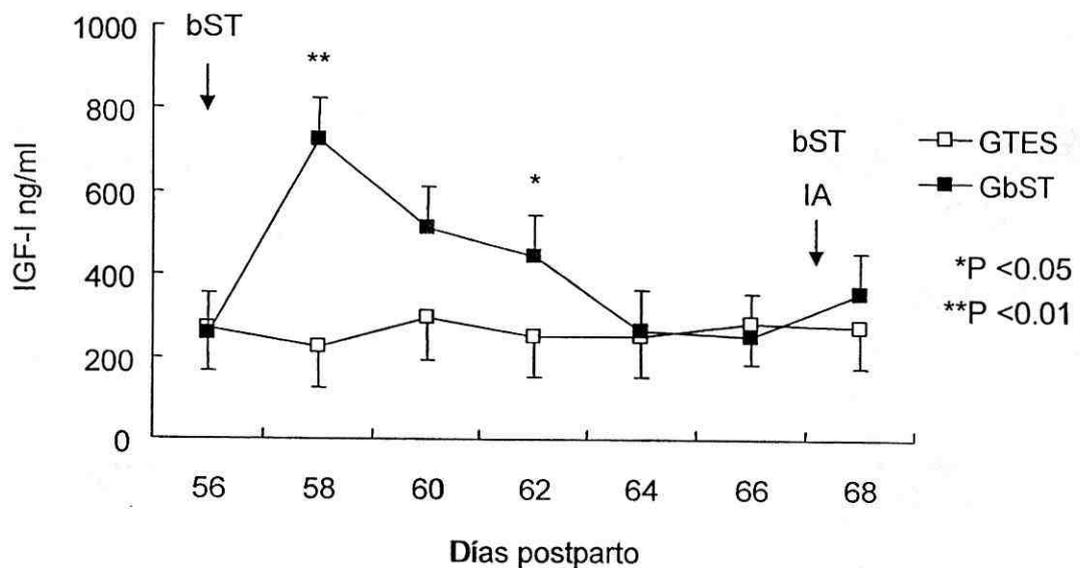


Figura 2. Concentraciones plasmáticas de IGF-I, en vacas multíparas tratadas con 250 mg de bST en relación a las no tratadas ($P < 0.05$; GTES $n = 10$) y ($P < 0.01$; GbST $n = 10$).

4.4 Niveles plasmáticos de P4

En la Figura 3 se observa que los valores de las concentraciones plasmáticas de P4 fueron más altos durante los días 56 al 60 postparto, posteriormente disminuyen del día 61 al 66 (>1.0 ng de P4) en ambos grupos, no se encontraron diferencias.

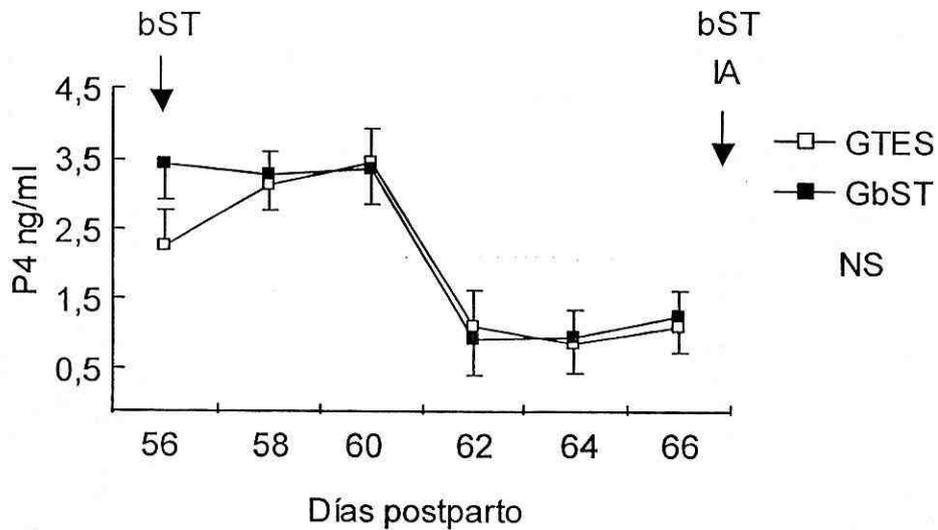


Figura 3. Concentraciones plasmáticas de P4 de vacas multíparas tratadas con 250 mg de bST, en comparación a las no tratadas para ambos grupos (NS) (GTES n= 10) y (GbST n= 10).

4.5 Condición corporal

En la Figura 4 se muestran los valores de la condición corporal en el día de la IA ($P < 0.01$). En las CC de 15 días antes de la IA y de 15 días después de la IA, no se encontraron diferencias entre los dos grupos.

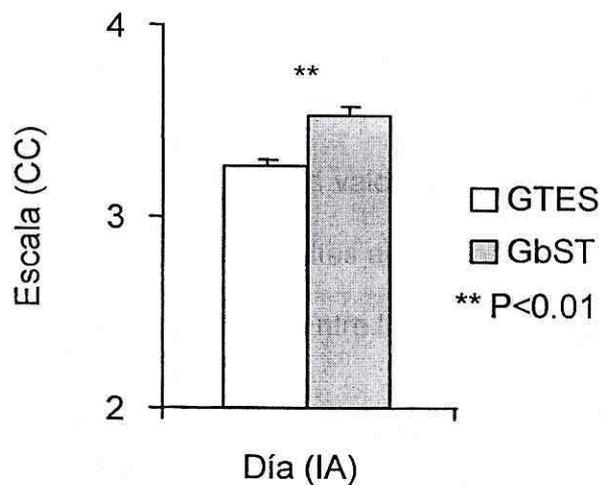


Figura 4. Condición corporal al momento de la inseminación artificial en vacas multíparas Holstein, al aplicación bST (250 mg/vaca) en relación al testigo ($P < 0.01$; GTES $n=145$) y (GbST $n=108$).

4.6 Relación tasas de concepción y condición corporal

En la Figura 5 se muestra la relación entre las tasas de concepción y la condición corporal (CC) en el día de la IA. Los resultados indican que las vacas del GbST con una CC de 3 a 3.5 y de 3.5 a 4, tuvieron tasas de concepción más elevadas ($P < 0.05$), con relación a las vacas que no recibieron bST, con la misma CC.

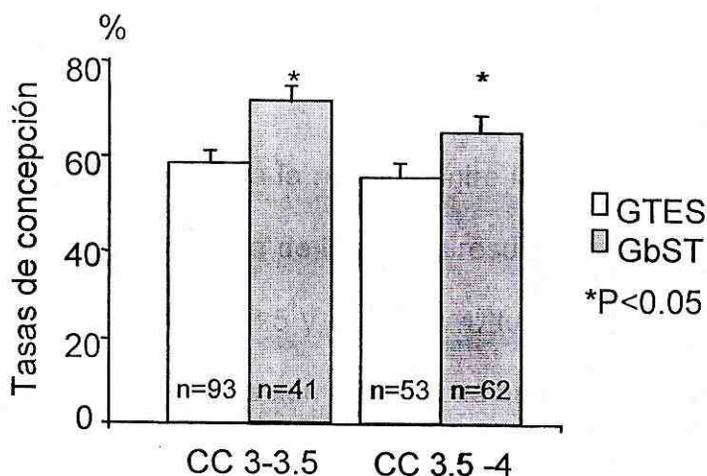


Figura 5. Tasas de concepción en vacas multíparas Holstein por nivel de condición corporal al momento de la inseminación artificial tratadas con 250 mg de bST y no tratadas ($P < 0.05$).

4.7 Producción láctea

El promedio de la producción de leche (Figura 6) en GbST fue mayor que en GTES ($P < 0.01$) en los días 56 al 68 postparto. A partir del día 69 esa diferencia de mayor cantidad de leche gradualmente fue disminuyendo hasta desaparecer.

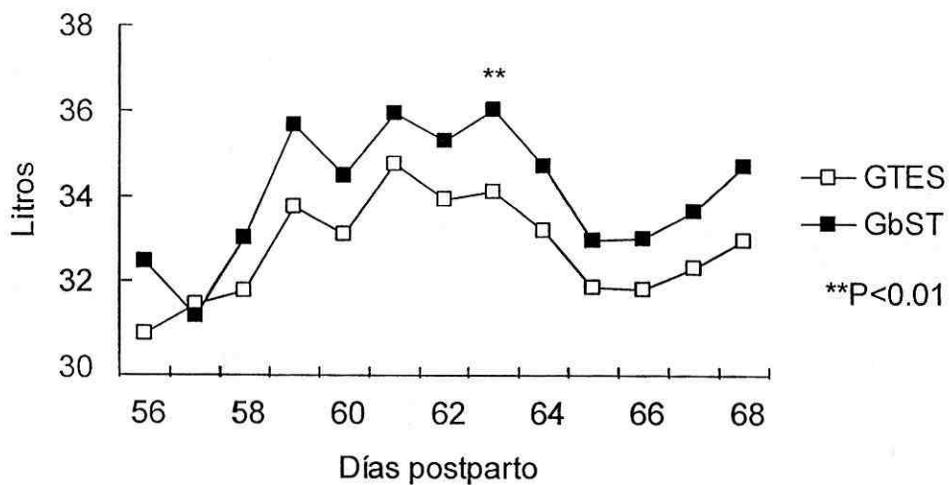


Figura 6. Producción de leche (l/vaca/día) del día 56 al 68 postparto de vacas multíparas tratadas con 250 mg de bST y no tratadas ($P < 0.01$; GTES $n = 154$) y (GbST $n = 108$).

4.8 Producción láctea de los dos grupos experimentales

En la Figura 7 se muestra el promedio de la producción láctea donde GbST fue mayor ($P < 0.01$), produciendo 1.32 l/día.

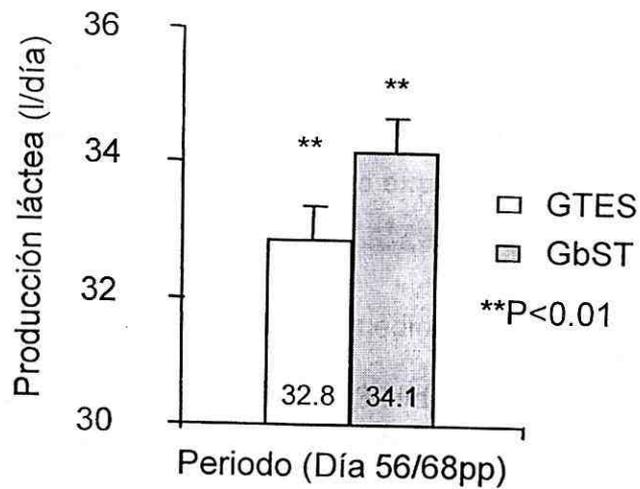


Figura 7. Producción de leche (l/vaca/día) del día 56 al 68 postparto de vacas multíparas tratadas con 250 mg de bST y no tratadas, GTES ($n = 154 = 32.8$ l) y GbST ($n = 108 = 34.8$ l).

V DISCUSIÓN

Se han reportado algunos efectos negativos de la bST en vacas lecheras, relacionados con la dosis, con el tiempo de inicio del tratamiento, con el desempeño reproductivo, con factores nutricionales y en consecuencia con la producción de leche (Morbeck *al.*, 1991; Cole *et al.*, 1992). Esteban *et al.* (1994) demostraron que la administración prolongada de bST en hatos lecheros, con la finalidad de incrementar la producción de leche, tiene un efecto negativo en la eficiencia reproductiva. Asimismo, se ha señalado que la bST afecta la fertilidad de las vacas lactantes a través de la reducción de la expresión del estro e incrementando la frecuencia de ovulaciones no detectadas (Kirby *et al.*, 1997). También otros autores han encontrado que con la administración de 500 mg de bST disminuyeron las tasas de preñez (Bilby *et al.*, 2004). Sin embargo, Morales (1993), propuso que al mantener altos niveles de bST e IGF-I en los siguientes días del servicio, podría tener un efecto favorable en la fertilidad.

Por otro lado, también existen reportes que indican que las vacas lecheras a las que se les administró bST en dosis reducidas tuvieron tasas de concepción y de preñez más elevadas (Stanisiewski *et al.*, 1992). Por eso en este trabajo se pensó que se podrían elevar las tasas de concepción al administrar dos dosis reducidas de bST en los días próximos a la IA y de ésta manera se podría evitar que esta hormona tuviera un efecto rápido en la producción de leche y el consiguiente incremento lento en el consumo de materia seca y por lo tanto que las vacas presentaran un balance energético

negativo aún mayor al que manifiesta normalmente durante los dos primeros meses de la lactación (Kirby *et al.*, 1997; Bilby *et al.*, 1999; Gulay *et al.*, 2003).

La hipótesis de este estudio fue que dos administraciones de 250 mg de bST, la primera en el día 56 postparto y la segunda al momento de la IA, pueden resultar en una elevación de las tasas de concepción en vacas Holstein y efectivamente en esta investigación las tasas de concepción en las vacas tratadas con bST fueron más elevadas, lo que está en concordancia con los reportes de Moreira *et al.* (2000, 2001), Hernández y Díaz (2003) y Santos *et al.* (2004).

Mann y Lamming (2001) encontraron que el aumento en las tasas de concepción en las vacas tratadas con bST puede explicarse porque interviene posiblemente en algunos mecanismos de la fertilidad, por ejemplo, en la maduración del ovocito, en el aumento del número de ovocitos fertilizados, en un mejoramiento del desarrollo embrionario y en consecuencia favoreciendo el reconocimiento materno.

El efecto de la bST en el ovario puede ser directo o indirecto, este último es mediado por los IGF-I sintetizados en el mismo folículo o en el hígado. Los receptores de bST y de IGF-I se localizan en el folículo, específicamente en las células de la granulosa y en la teca interna (Spicer y Echterkamp, 1995; Izadyar *et al.*, 1997).

En el presente estudio la bST en dosis reducidas incrementó las concentraciones plasmáticas de IGF-I, lo que se pudo favorecer la selección y dominancia del folículo. De la Sota *et al.* (1993) y Gulay *et al.* (2003) indican que en las vacas tratadas con bST se observa un incremento en el número de folículos de 6 a 10 mm de diámetro y un aumento en el diámetro de los folículos subordinados que son los que pueden alcanzar el estado de dominancia.

Peel y Bauman (1987) argumentan que la bST aumenta localmente la producción de IGF-I, regulando mediante mecanismos autocrinos o paracinos las células de la granulosa, por lo que el IGF-I liberado estimula el funcionamiento ovárico, esta concentración plasmática tienen un efecto positivo en la dinámica folicular (Badinga *et al.*, 1992). También Izadyar *et al.* (1996) reportan que con la adición de bST a las células del *cumulus* en ovocitos cultivados *in vitro*, se acelera la maduración del núcleo y del citoplasma, este efecto pudiera ocurrir también *in vivo* debido a que las concentraciones de IGF-I en el líquido folicular se elevan después de la administración de bST, por lo que sería válido suponer que la hormona del crecimiento puede afectar directamente al folículo preovulatorio, así como la maduración del ovocito. También Moreira *et al.* (2002) encontraron un efecto positivo de la bST en vacas lactantes por la respuesta favorable tanto la hormona de crecimiento como del IGF-I en la fertilización de los ovocitos.

Existen receptores del IGF-I en las células epiteliales del oviducto (Makarevich y Sirotkin, 1997) en el endometrio, en el útero del bovino, en el

conceptus (embrión y sus membranas), en el fluido luminal uterino ovino y durante el periodo de pre-implantación (Ko *et al.*, 1991). La administración de bST induce un incremento en las concentraciones séricas y uterinas de IGF-I, y bST que favorece el desarrollo embrionario temprano (Palma *et al.*, 1997; Rieger *et al.*, 1998). Después de la fertilización, el desarrollo embrionario puede estar influenciado por la bST y por el IGF-I (Palma *et al.*, 1997). Además, el IGF-I actúa como un factor de sobrevivencia embrionaria al disminuir el daño provocado por factores embriotóxicos (Jousan y Hansen, 2004).

El IGF-I y otros factores de crecimiento han sido implicados en la secreción de la fosfolipasa A₂ y de la enzima ciclooxygenasa-2 que regulan la síntesis de PG, inhibiendo su secreción (Berebaum *et al.*, 1994); Badinga *et al.*, (2000), lo que favorece el reconocimiento materno y la sobrevivencia del embrión (Moreira *et al.*, 2001).

Las tasas de concepción de este estudio resultaron ser más muy altas comparadas con las reportadas como promedio en la Comarca Lagunera que fueron en 2002 de 27.9% (Fernández, 2003), probablemente esto se debió a los efectos favorables que aceleran el crecimiento embrionario temprano postinseminación, lo cual resulta en un mejoramiento de la capacidad de secretar más interferón- τ (Mann y Lamming, 2001). Lo anterior puede provocar un bloqueo en la cascada luteolítica, como lo encontraron Binelli *et al.* (2001), ya que en el día 12 el embrión comienza a elongarse, lo cual se asocia con la

producción de la hormona anti-luteolítica (interferón- τ) *in vivo* (Farin *et al.*, 1990) e *in vitro* (Ko *et al.*, 1991). Sin embargo, las vacas del grupo testigo también mostraron tasas de concepción más elevadas, lo que no coincide con las vacas restantes del establo, esto se pudo deber a la relación de la condición corporal y a la nutrición, ya que estas dos variables participan en la función reproductiva como lo menciona Montiel *et al.* (2003). También Yung *et al.* (1995) mencionan en vacas con BEN decrece el cuerpo lúteo y las concentraciones de progesterona en la sangre. Otro factor mencionado por Roth *et al.* (2002) es el estrés calórico que se asocia con una baja fertilidad, durante el periodo de estudio estos factores no se expresaron, por lo que es una posible explicación para que el grupo testigo halla tenido una fertilidad alta.

En lo que se refiere a la respuesta estral, el grupo que recibió dos dosis reducidas de bST en mayor parte de las vacas presentó una manifestación de estro más temprana comparada con el grupo testigo. Las vacas tratadas mostraron el comportamiento estral 6.6 días antes que las vacas testigo. Este resultado no coincide con Cole *et al.* (1992) ni con Kirby *et al.* (1997), quienes indican que las dosis de 500 mg bST afectan la fertilidad de las vacas lactantes reduciendo la expresión del estro. Morbeck *et al.* (1991) en varios estudios se encontró que con las aplicaciones de bST cada 14 días, se reduce la manifestación del estro, probablemente porque la bST afectó los centros de la conducta en el cerebro que controlan la expresión del estro, lo que también ha sido reportado por Santos *et al.* (2004).

Durante la gestación temprana, el embrión debe inhibir el mecanismo de la luteólisis para mantener la secreción de P4 necesario para continuar su desarrollo, por lo que la progesterona juega el papel principal estimulando la producción de una variedad de secreciones endometriales necesarias para el desarrollo adecuado del embrión (Mann y Lemming, 20001).

En cuanto a la producción de leche, a pesar de que el objetivo del presente estudio no fue encaminado a incrementarla, se encontró que las vacas que recibieron bST produjeron 34.08 l/día en comparación con las vacas testigo que tuvieron 32.76 l/día. Hay que aclarar que este grupo de vacas eran altas productoras en relación al promedio general en los hatos lecheros de la Comarca Lagunera, cuya producción promedio en este año fue 28.9 l/día según Fernández (2003). Bauman *et al.* (1985) y Bauman (1999) indican que cuando a las vacas se les aplica 500 mg de bST al inicio de la lactancia, se incrementa la producción láctea de 10 a 15%. En el presente estudio las dos dosis reducidas de 250 mg cada una, aumentó únicamente 4.03% la producción de leche en las vacas tratadas durante los días del tratamiento, lo que está en concordancia con Gulay *et al.* (2003) que reportan un incremento de 3.5% en la producción láctea cuando se aplican dosis reducidas de 112 mg bST, durante el parto y la lactancia temprana. Stanisiewski *et al.* (1992) reportaron que al aplicar bST en el período del parto y postparto se presentó un incremento de 6.6% en la producción láctea. También Richard *et al.* (1985) encontraron un incremento de

6.6% de producción láctea al aplicar 50 mg de bST durante el inicio del postparto.

Con respecto a la CC Looper *et al.* (2003), indican que las vacas con una adecuada CC al parto no caen drásticamente en BEN, ya que los cambios en la CC se presentan al inicio de la lactancia por la movilización de energía de los tejidos corporales para la producción de leche (Rastani *et al.*, 2001), Domecq *et al.*, (1997) argumentan que una disminución de la CC durante los primeros 30 días de lactancia tiene efectos negativos en la tasa de concepción. Con base a lo anterior, en el presente estudio se midió la CC 15 días antes de la IA, al momento y 15 postinseminación para detectar la movilización de reservas corporales, pero, no se observó efecto negativo de la CC en las vacas en postparto durante este periodo. Buckley *et al.* (2003) indican que es recomendable mantener la CC por lo menos en 2.75, ya que una disminución en el postparto es perjudicial en el desempeño reproductivo. Las vacas con una CC menor a 2.75 al momento de la IA, tienen mayores problemas reproductivos que las vacas con una CC moderada de 3.0. Se ha establecido una relación entre la CC y la ciclicidad en las vacas lactantes, se indica que es un valor de 3,25 es aceptable pues con esa condición parece no aumentar la incidencia de las anovulaciones. Moreira *et al.* (2001) argumentan que es importante la CC inmediatamente antes del parto y en primeros días postparto y en el día de la IA, ya que repercute en la ciclicidad de las vacas. Las vacas con una CC baja en día 70 postparto presentan problemas reproductivos, debido posiblemente

también a que esas veces tuvieron una disminución de la CC de manera drástica durante los primeros días postparto (Moreira *et al.*, 2003).

Por su parte, Kronfeld (1994) sugirió que la bST tiene efectos negativos sobre la fertilidad de las vacas lecheras lactantes ya que la dosis 500 mg de bST, durante el postparto temprano afecta negativamente la CC y las tasas de concepción comparado con las vacas que no recibieron bST (Moallem *et al.*, 1997; 2000). Los resultados de la presente investigación revelaron que la CC 15 días post-inseminación disminuyó ligeramente en comparación con la que tenían al momento de la IA; sin embargo, no existió diferencia estadística y esto coincide con lo reportado por García. (1998) mencionado por Gulay (2003). Las vacas en este estudio mantuvieron su CC entre 3.0 a 3.7, además se ha reportado por Gulay *et al.* (2000) que las vacas en el preparto tratadas con dosis reducidas de bST diariamente recuperan la CC más rápidamente en la lactancia temprana y Gulay (2003) indica que las vacas tratadas con bST durante el preparto y el postparto también tienen pérdidas menos pronunciadas de CC.

La diferencia entre este trabajo y otros como los de Peel y Bauman (1987) y Bauman (1992), es que estos se enfocaron para elevar la producción láctea, por otro lado, también existen reportes que indican que la administración bST en dosis reducidas continuas pueden tener un efecto favorable en tasas de concepción como lo indican Burton *et al* (1990), Morbeck *et al* (1991), Stanisiewski *et al* (1992) y Morales (1993) quienes estudiaron el efecto de dos

dosis de 500 mg, la primera aplicada al inicio del estro y la segunda al día 10 postinseminación; de la misma manera Mendoza (2000) estudió el efecto de esa misma dosis solamente al momento de inseminación artificial. A pesar de existir estudios enfocados a mejorar las tasas de concepción con bST, mencionados por Morales (2003), el objetivo principal de este estudio fue evaluar el efecto de dos dosis reducidas días antes y al momento de la inseminación artificial sobre las tasas de concepción.

Diversos autores coinciden que los efectos de la bST en dosis reducidas tienen un efecto favorable en la fertilidad, por lo que es importante continuar estudiando diversos protocolos en la aplicación de bST o quizás otras dosis reducidas, encaminadas a elevar la fertilidad y sin alterar la producción láctea.

VI CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio permiten concluir que con la aplicación de dos inyecciones de 250 mg de bST, la primera 10 días antes de la inseminación y la segunda al momento de la inseminación, se elevaron las tasas de concepción de vacas Holstein durante el protocolo de sincronización del estro con GnRH y prostaglandina, lo cual también estuvo en relación con mayores concentraciones plasmáticas de IGF-I.

VII LITERATURA CITADA

- Adashy, Y. E., A. J. Rock, Z. Rosenwaks. 1996. Reproductive endocrinology, surgery, and technology. Lippincott-Rave Publishers. Volumen 1:784-789.
- Al-Katanani, Y. M., F. F. Paula-Lopes, P. J. Hansen. 2002. Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 85:390-396.
- Alnimer, M., G. De Rosa, F. Grasso, F. Napolitano, A. Bordi. 2002. Effect of climate on the response to three oestrous synchronisation techniques in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 71(3-4):157-68.
- Armstrong, D. V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci.* 77:2044-2050.
- Badinga, L., M. A. Driancourt, J. D. Savio, D. Wolfenson, M. Drost, R. L. De La Sota, W. W. Thatcher. 1992. Endocrine and ovarian responses associated with the first-wave dominant follicle in cattle. *Biol Reprod.* 47: 871
- Badinga, L., A. Guzeloglu, M. Binelli, W. W. Thatcher. 2000. Bovine somatotropin attenuates phorbol ester-induced PGF₂ α release in bovine endometrial cells. *Biol. Reprod.* 62: 150 [Abstract].
- Baker, J., M. P. Hardy, J. Zhou, C. Bondy, F. Lupu, A. R. Bellve, A. Efstratiadis. 1996. Effects of an IGF-I gene null mutation on mouse reproduction. *Mol. Endocrinol.* 10: 903.
- Bauman, D. E., P. J. Eppard, M. J. Degeeter, G. M. Lanza. 1985. Responses of high-producing dairy cows to long-term treatment with pituitary somatotropin and recombinant somatotropin. *J. Dairy Sci.* 68: 1352-1362.
- Bauman, D. E. 1992. Bovine somatotropin: Review of an emerging animal technology. *J. Dairy Sci.* 75:3432-3451.
- Bauman, D. E. 1999. Bovine somatotropin and lactation: From basic science to commercial application. *Domest Anim Endocrinol.* 17 (2-3):101-116.
- Beam, S. W., W. R. Butler. 1998. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J. Dairy Sci.* 81: 121-131.
- Berebaum, F., G. Thomas, S. Poiraudreau, G. Bereziat, M. T. Corvol, J. Masliah. 1994. Insulin-like growth factors counteract the effect of interleukin 1 β on type II phospholipase A₂ expression and arachidonic acid release by rabbit articular chondrocytes. *FEBS Lett.* 340: 51-55.

- Bilby, C. R., J. F. Bader, B. E. Salfen, R. S. Youngquist, C. N. Murphy, H. A. Garverick, B. A. Crooker y M. C. Lucy. 1999. Plasma GH, IGF-I, and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH. *Theriogenology*. 51(7):1285-1296.
- Bilby, T. R., A. Guzeloglu, S. Kamimura, S. M. Pancarci, F. Michel, H. H. Head W. W. Thatcher. 2004. Pregnancy and bovine somatotropin in nonlactating dairy cows: I. Ovarian, conceptus, and insulin-like growth factor system responses. *J. Dairy Sci.* 87 (10):3256-3267.
- Binelli, M., P. Subramaniam, T. Diaz, G. A. Johnson, T. R. Hansen, L. Badinga, W. W. Thatcher. 2001. Bovine interferon- stimulates the janus kinase-signal transducer and activator of transcription pathway in bovine endometrial epithelial cells. *Biol Reprod.* 64: 654.
- Buckley, F., K. O'Sullivan, J. F. Mee, R. D. Evans, P. Dillon. 2003. Relationships among milk yield, body condition, cow weight, and reproduction in spring-calved Holstein Friesians. *J. Dairy Sci.* 86: 2308.
- Burton, J. L., B. W. McBride, J. H. Burton, R. G. Eggert. 1990. Health and reproductive performance of dairy cows treated for up to two consecutive lactations with bovine somatotropin. *J. Dairy. Sci.* 73:3258-3265.
- Butler, W. R., R. W. Everett, C. E. Coppok. 1981. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in oestrous Holstein cows. *Journal of Animal Science.* 53: 742-748.
- Butler, W. R., R. D. Smith. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 72(3):767-83.
- Butler, W. R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci.* 60: 449-457.
- Butler, S. T., A. L. Marr, S. H. Pelton, R. P. Radcliff, M. C. Lucy, W. R. Butler. 2003. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. *J. Endocrinol.* 176:205-17.
- Campbell, B. K., R. J. Scaramuzzi, R. Webb. 1995. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *J. Reprod Fertil Suppl.* 49:335-50.
- Cole, W. J., P. J. Eppard, B. G. Boysen, K. S. Madsen, R. H. Sorbe, T. M. A. Miller. R. L. Hintz, C. White, W. E. Ribelin, B. G. Hammond, R. J. Collier, G. M. Lanza. 1992. Response of dairy cows to high doses of a sustained-release bovine somatotropin administered during two lactations. *J. Dairy Sci.* 75:111-123

- CONAGUA. Disponible en: <http://sgp.cna.gob.mx/Publico/Mapoteca/Mapa.htm>.
Fecha de acceso: 28 de agosto de 2005.
- Conn, P. M., M. E. Freeman. 2000. Neuroendocrine regulation of sexual behavior. En: *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. H. Press Totowa, New Jersey: 9-47, 111-133, 287-297,.
- Daley, C. A., H. Sakurai. B. M. Adams T. E. Adams. 2000. Effect of stress-like concentrations of cortisol on the feedback potency of oestradiol in orchidectomized sheep. *Anim Reprod Sci.* 31;59(3-4):167-78.
- Daughaday, W. H., P. Rotwein, 1989. Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. *Endocrine Reviews* 10:68.
- De la Sota, R.L., M. C. Lucy, C. R. Staples, W. W Thatcher. 1993. Effects of recombinant bovine somatotropin (sometribove) on ovarian function in lactating and nonlactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:1002-13.
- Domecq, J. J., A. L. Skidmore, J. W. Lloyd, J. B. Kaneene. 1997. Relationship Between Body Condition Scores and Milk Yield in a Large Dairy Herd of High Yielding Holstein Cows. *J Dairy Sci.* 80:101-112.
- Du Preez, J. H. 2000. Parameters for the determination and evaluation of heat stress in dairy cattle in South Africa. *Veterinary Research.* 67(4):263-71.
- Einspanier, R., A. Miyamoto, D. Schams, M. Muller, G. Brem. 1990. Tissue concentration, mRNA expression and stimulation of IGF-I in luteal tissue during the oestrous cycle and pregnancy of cows. *J. Reprod Fertil.* 90: 439.
- Esteban, E., P. H. Kass, L. D. Weaver, J. D. Rowe, C. A. Holmberg, C. E. Franti, H. F. Troutt. 1994. Reproductive Performance in High Producing Dairy Cows Treated with Recombinant Bovine Somatotropin *J Dairy Sci.* 77: 3371-3381.
- Etherton, T. D. 2004. Somatotropic function: The somatomedin hypothesis revisited. *J. Anim Sci.* 82(E. Suppl):E239-E244.
- Evans, A. C. O. 2003. Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reprod Domest Anim.* 38(4):240-246.

- Evans A. C. O., Canty M. J. 2004. Physiology of follicle development in cattle. Department of Animal Science and Production and the Centre for Integrative Biology Conway Institute for Biomolecular and Biomedical Research University College Dublin, Belfield, Dublin 4, Ireland. 23rd World Buiatrics Congress, Quebec City, Canada, 2004. This manuscript is reproduced in the IVIS website with the permission of the World Association for Buiatrics.
- Evans, H. M., J. A Long. 1921. Characteristic effects upon growth, oestrus and ovulation induced by the intraperitoneal administration of fresh of fresh anterior hypophyseal substance. *Proc. Natl. Sci. USA.* 8:38-39.
- Evans, H. M., M. E. Simpson. 1931. Hormones of the anterior hypophysis. *Am J Physiol.* 98:511-546.
- Farin, C. E., K. Imakawa, T. R. Hansen, J. J. McDonnell, C. N. Murphy, P. W. Farin, R. M. Roberts. 1990. Expression of trophoblastic interferon genes in sheep and cattle. *Biol Reprod.* 43(2):210-218.
- Ferguson, D.J., D. T. Galligan, N. Thomsen. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77:2695-2703.
- Fernández, D. L. J. 2003. Análisis del comportamiento reproductivo en vacas lecheras de la Comarca Lagunera. Memorias del II Simposio Nacional de infertilidad en la Vaca Lechera y III Congreso Internacional de Médicos Veterinarios Zootecnistas Especialistas en Bovinos de la Comarca Lagunera: 123-130.
- Fortune, J. E., G. M. Rivera, M. Y. Yang. 2004. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci.* 82-83:109-26.
- Fuquay, J. W. 1981. Heat stress as it affects animal production. *J. Anim. Sci.* 52:164.
- Garcia, A. G. 1998. Use of bST in management of growing heifers and transition cows to improve growth rates and milk production ph. D. dissertation. University of Florida, Gainesville.
- Gallo, G. F., E. Block. 1990. Effects of recombinant bovine somatotropin on nutritional status and liver function of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 733:3276-3286.
- Gulay, M. S., A. G. Garcia, M. J. Hayen, C. J. Wilcox, H. H. Head. 2000. Physiological responses of Holstein cows to various bST treatments during the transition period. *J. Dairy Sci.* [Suppl. 1]:219. [Abstract].
- Gulay, M. S., M. J. Hayen, L. C. Teixeira, C. J. Wilcox, H. H. Head. 2003. Responses of Holstein cows to a low dose of somatotropin (bST) prepartum and postpartum. *J. Dairy Sci.* 86:3195-3205.

- Gulay, M. S., M. J. Hayen, M. Liboni, T. I. Belloso, C. J. Wilcox, H. H Head. 2004. Low doses of bovine somatotropin during the transition period and early lactation improves milk yield, efficiency of production, and other physiological responses of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 87:948-960.
- Hansen, P. J., C. F. Aréchiga. 1999. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. *J. Anim Sci.* 77 Suppl 2:36-50.
- Hansen, P. J. 2001. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. *J. Anim Sci.* 80 (E. Suppl. 2):E33-E44.
- Harvey, S., C. L. Render, K. L. Hull. 1995. Neural expression of the pituitary GH gene. *J. Endocrinol.* Vol 147.3:13-422.
- Hernández, C. J., B. Díaz. 2003. La somatotropina bovina como una herramienta para incrementar la fertilidad en la vaca lechera. *Memorias del II Simposio Nacional de infertilidad en la Vaca Lechera y III Congreso Internacional de Médicos Veterinarios Zootecnistas Especialistas en Bovinos de la Comarca Lagunera: 123-130.*
- Hunter, M. G., R. S. Robinson, G. E. Mann, R. Webb. 2004. Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Anim Reprod Sci.* 82-83:461-77.
- Izadyar, F., B. Colenbrander, M. M. Bevers. 1996. In vitro maturation of bovine oocytes in the presence of growth hormone accelerates nuclear maturation and promotes subsequent embryonic development. *Mol. Reprod. Dev.* 45:372-377.
- Izadyar, F., B. Colenbrander, M. M. Bevers. 1997. Stimulatory effect of growth hormone on in vitro maturation of bovine oocytes is exerted through the cyclic adenosine 3',5'-monophosphate signaling pathway. *Biol Reprod.* 57: 1484.
- Izadyar, F., E. Zeinstra, M. M. Bevers. 1998. Follicle-stimulating hormone and growth hormone act differently on nuclear maturation while both enhance developmental competence of in vitro matured bovine oocytes. *Mol. Reprod Dev.* 51(3):339-345.
- Johnson, D. E., G. M. Ward, J. Torrent. 1992. The environmental impact of bovine somatotropin use in dairy cattle. *J. Environ. Quality* 21: 157-162.
- Jordan, E. J. 2003. Effects of heat stress on reproduction. *J. Dairy Sci.* 86: E104-E114.

- Jousan, F. D., P.J. Hansen. 2004. Insulin-like growth factor-I as a survival factor for the bovine preimplantation embryo exposed to heat shock. *Biol Reprod.* 71:1665-1670.
- Kassa, T., J. D. Ambrose, A. L. Adams, C. Risco, C. R. Staples, M. J. Thatcher, H. H. Van Horn, A. Garcia, H. H. Head, W. W. Thatcher. 2002. Effects of whole cottonseed diet and recombinant bovine somatotropin on ovarian follicles in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:2823-2830.
- Katoh, K., G. Furukawa, K. Kitade, N. Katsumata, Y. Kobayashi, Y. Obara. 2004. Postprandial changes in plasma GH and insulin concentrations, and responses to stimulation with GH-releasing hormone (GHRH) and GHRP-6 in calves around weaning. *J Endocrinol.* 183:497-505.
- Kirby, C. J., W. W. Thatcher, R. J. Collier, F. A. Simmen, M. C. Lucy. 1996. Effects of growth hormone and pregnancy on expression of growth hormone receptor, insulin-like growth factor-i, and insulin-like growth factor binding protein-2 and -3 genes in bovine uterus, ovary, and oviduct. *Biol Reprod.* 55:996-1002.
- Kirby, C. J., S. J. Wilson, M. C. Lucy. 1997. Response of dairy cows treated with bovine somatotropin to a luteolic dose of prostaglandin F_{2α}. *J. Dairy Sci.* 80:286-294.
- Ko, Y., C. J. Lee, T. L. Ott, M. A. Davis, R. C. M. Simmen, F. W. Bazer, F. A. Simmen. 1991. Insulin-like growth factors in sheep uterine fluids: concentrations and relationship to ovine trophoblastic protein-1 production during early pregnancy. *Biol Reprod.* 45:135-142.
- Kris-Etherton, P. M., D. Krummel, M. E. Russell, D. Dreon, S. Mackey, J. Borchers, P. D. Woow. 1988. The effect of diet on plasma lipids, lipoproteins and coronary heart disease. *J. Am. Diet. Assoc.* 88: 1373-1400.
- Kronfeld, D. S. 1994. Health and management of dairy herds treated with bovine somatotropin. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204:116-130.
- León, H. V., J. Hernández-Cerón, D. H. Keisler, C. G. Gutierrez. 2004. Plasma concentrations of leptin, insulin-like growth factor-I, and insulin in relation to changes in body condition score in heifers. *J Anim Sci.* 82:445-451.
- Looper M. L., C. A. Lents, R. P. Wettemann. 2003. Body condition at parturition and postpartum weight changes do not influence the incidence of short-lived corpora lutea in postpartum beef cows. *J. Anim Sci.* 81: 2390-2394.
- Lopez-Gatiús 2003. Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain. *Theriogenology.* 60 (1): 89-99.

- Lucy, M. C., J. Beck, C. R. Staples, H. H. Head, R. L. De La Sota, W. W. Thatcher. 1992. Follicular dynamics, plasma metabolites, hormones and insulin-like growth factor I (IGF-I) in lactating cows with positive or negative energy balance during the preovulatory period. *Reprod Nutr Dev.* 32:331-341.
- Lucy, M. C., J. D. Savio, L. Badinga, R. L. De La Sota, W. W. Thatcher. 1992. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim Sci.* 70:3615-3626.
- Lucy, M. C., W. W. Thatcher, R. J. Collier, F. A. Simmen, Y. Ko, J. D. Savio, L. Badinga. 1995. Effects of somatotropin on the conceptus, uterus, and ovary during maternal recognition of pregnancy in cattle. *Domest Anim Endocrinol.* 12:73-82.
- Lucy, M. C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J. Dairy Sci.* 84:1277-1293.
- Lucy, M. C., S. McDougall, D. P. Nation. 2004. The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. *Anim Reprod Sci.* 82-83:495-512.
- Makarevich, A. V., A. V. Sirotkin. 1997. The involvement of the GH/IGF-I axis in the regulation of secretory activity by bovine oviduct epithelial cell. *Animal Reprod. Sci* 48:197-207.
- Malven, P. V., H. H. Head, R. J. Collier, F. C. Buonomo. 1987. Periparturient changes in secretion and mammary uptake of insulin and in concentrations of insulin and insulin-like growth factors in milk of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 70:2254.
- Mann, G. E., G. E. Lamming. 2001. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *J Reprod Fertil.* 121: 175.
- Martinet, J., L. M. Houdebine, H. H. Head. 1999. *Biology of lactation.* INRA-edition. Pp: 261-305.
- Meikle, A., M. Kulcsar, Y. Chilliard, H. Febel, C. Delavaud, D. Cavestany, P. Chilbroste. 2004. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *J Reprod Fertil.* 127: 727 - 737.

- Moallem, U., M. Kaim, Y. Folman, D. Sklan. 1997. Effect of calcium soaps of fatty acids and administration of somatotropin in early lactation on productive and reproductive performance of high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80: 2127-2136.
- Moallem, U., Y. Folman, D. Sklan. 2000. Effects of somatotropin and dietary calcium soaps of fatty acids in early lactation on milk production, dry matter intake, and energy balance of high-yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83: 2085-2094.
- Montiel, F., C. Ahuja. 2005. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Anim. Reprod. Sci.* 85:1-26
- Morales, R S. 2000. Efecto de un tratamiento corto de somatotropina bovina recombinante (rbST) al momento del estro sobre los niveles de concepcion y funcion lutea en vacas repetidoras (tesis de Maestria) Mexico DF UNAM
- Morales-Roura, J. S., L. Zarco, J. Hernández-Cerón, G. Rodríguez. 2001. Effect of short-term treatment with bovine somatotropin at estrus on conception rate and luteal function of repeat-breeding dairy cows. *Theriogenology.* 55(9):1831-41.
- Morbeck, D. E., J. H. Britt, B. T. Mcdaniel. 1991. Relationships Among Milk Yield, Metabolism, and Reproductive Performance of Primiparous Holstein Cows Treated with Somatotropin. *J Dairy Sci* 74: 2153-2164
- Moreira, F., C. A. Risco, M. F. Pires, J. D. Ambrose, M. Drost, W.W. Thatcher. 2000. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 83:1237-1247.
- Moreira, F., C. Orlandi, C. A. Risco, R. Mattos, F. Lopes, W. W. Thatcher. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:1646-1659.
- Moreira, F., F. F. Paula-Lopes, P. J. Hansen, L. Badinga, W. W. Thatcher. 2002 Effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I on development of in vitro derived bovine embryos. *Theriogenology.* 57(2):895-907.
- Palma, G. A., M. Muller, G. Brem. 1997. Effect of insulin-like growth factor I (IGF-I) at high concentrations on blastocyst development of bovine embryos produced in vitro. *J. Reprod Fertil.* 110:347-353.
- Peel, C. J., D. E. Bauman. 1987. Somatotropin and lactation. *J. Dairy Sci.* 70(2):474-486.

- Rastani, R. R. S., M. Andrew, S. A. Zinn, C. J. Sniffen. 2001. Body Composition and Estimated Tissue Energy Balance in Jersey and Holstein Cows During Early Lactation. *J Dairy Sci.* 84:1201-1209.
- Renaville, R., M, Hammadi, D. Portetelle. 2002. Role of the somatotropic axis in the mammalian metabolism. *Domest Anim Endocrinol.* 23(1-2):351-60.
- Rhoads, R. P., J. W Kim, B. J Leury L. H. Baumgard, N. Segole, S. J. Frank, D. E. Bauman, Y. R. Boisclair. 2004. Insulin increases the abundance of the growth hormone receptor in liver and adipose tissue of periparturient dairy cows. *American Society for Nutritional Sciences.* 1020-1027.
- Richard, A. L., S. N. McCutcheon, D. E. Bauman. 1985. Responses of dairy cows to exogenous growth hormone administered during early lactation. *J. Dairy Sci.* 68:2385-2389.
- Rieger, D. A., M. Luciano, S. Modina, P. Pocar, A. Lauria, F. Gandolfi. 1998. The effects of epidermal growth factor and insulin-like growth factor I on the metabolic activity, nuclear maturation and subsequent development of cattle oocytes in vitro. *J. Reprod Fertil.* 112:123-30.
- Robinson, R. S., G. E. Mann, T. S. Gadd, G. E. Lamming, D. C. Wathes. 2000. The expression of the IGF system in the bovine uterus throughout the oestrous cycle and early pregnancy. *J. Endocrinol.* 165(2):231-243.
- Roth Z., A. Arav, R. Braw-Tal, A. Bor, D. Wolfenson. 2002. Effect of treatment with follicle-stimulating hormone or bovine somatotropin on the quality of oocytes aspirated in the autumn from previously heat-stressed cows. *J. Dairy Sci.* 85: 1398-1405.
- Ruegg, P. L., R. L. Milton. 1995. Body condition scores of Holstein cows on Prince Edward Island, Canada: relationships with yield, reproductive performance, and disease. *J Dairy Sci* 78:552-564.
- Santos, J. E. P., S. O. Juchem, R. L. A. Cerri, K. N. Galvao, R. C. Chebel, W. W. Thatcher, C. S. Dei, C. R. Bilby. 2004 Effect of bST and reproductive management on reproductive performance of Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*;87(4):868-881.
- Sartori, R., R. Sartor-Bergfelt, S. A. Mertens, J. N. Guenther, J. J. Parrish, M. C. Wiltbank. 2002. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J. Dairy Sci.* 85: 2803-2812.
- SAS/STAT. 1996. User's guide. Version 6.1. SAS. Institute., Inc., Cary NC.

- Spicer, L. J., S. E. Echtenkamp, E. A. Wong, D. T. Hamilton, R. K. Vernon. 1995. Serum hormones, follicular fluid steroids, insulin-like growth factors and their binding proteins, and ovarian IGF mRNA in sheep with different ovulation rates. *J. Anim Sci.* 73: 1152.
- Spicer, L. J., S. E. Echtenkamp, S. F. Canning, J. M. Hammond. 1988. Relationship between concentrations of immunoreactive insulin-like growth factor-I in follicular fluid and various biochemical markers of differentiation in bovine antral follicles. *Biol. Reprod.* 39:573.
- Spicer, L. J., W. B. Tucker, G. D. Adams. 1990. Insulin-like growth factors in dairy cows: relationship among energy balance, body condition, ovarian activity and estrous behaviour. *Journal of Dairy Science* 73 929-937.
- Stanisiewski, E. P., L. F. Krabill, J. W. Lauderdale. 1992. Milk yield, health, and reproduction of dairy cows given somatotropin (Somavubove) beginning early postpartum. *J. Dairy Sci*; 75:2149-2164.
- Staten, N. R., J. C. Byatt, G. G. Krivi. 1993. Ligand-specific dimerization of the extracellular domain of the bovine growth hormone receptor. *J. Biol Chem.* 268: 18467-18473.
- Thatcher, W. W., M. Binelli, J. Burke, C. R. Staples, J. D. Ambrose, S. Coelho. 1997. Antiluteolytic signals between the conceptus and endometrium. *Theriogenology.* 47:131-140.
- Tuggle, C. K, A. Trenkle. 1996. Control of Growth Hormones Synthesis. *Domest Anim Endocrinol* 13:1-33.
- Vicini, J. L., F. C. Buonomo, J. J. Veenhuizen, M. A. Miller, D. R. Clemmons, R. J. Collier. 1991. Nutrient balance and stage of lactation affect responses of insulin, insulin-like growth factors I and II, and insulin-like growth factor-binding protein 2 to somatotropin administration in dairy cows. *J. Nutr.* 121:1656-1664.
- Webb, R., R. G. Gosden, E. E. Telfer, R. M. Moor. 1999 Factors affecting folliculogenesis in ruminants. *Anim Sci.* 68:257-284.
- Webb, R., P. C. Garnsworthy, J. G. Gong, D. G Armstrong. 2004. Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. *J. Anim. Sci.* 82:E63–E74.
- Wilmut, I., D. I. Sales, C. J. Ashworth. 1986. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. *J. Reprod Fertil.* 76:851-864.
- Wolfenson, D., Z. Roth, R. Meidan. 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim Reprod Sci.* 2:60-61:535-47.

Yung, M. C., M. J. Vanden, R. L. Forgwel, B. K. Sharma. 1995. Effect of energy balance and somatotropin on insulin-like growth factor I in serum and on weing and progesterone of corpus luteum in heifers. *J. Anim. Sci.* 74:2239-2244.