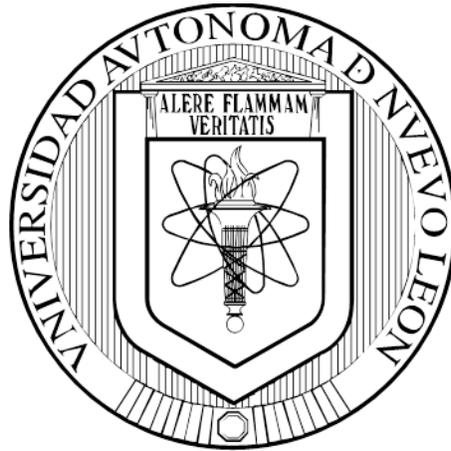


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**TESIS**

**EFFECTO DE LA HORMONA GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA  
(eCG) POST INSEMINACIÓN EN VACAS DE CARNE**

**PRESENTA**

**RUBÉN MOISÉS LÓPEZ CHAVARRÍA**

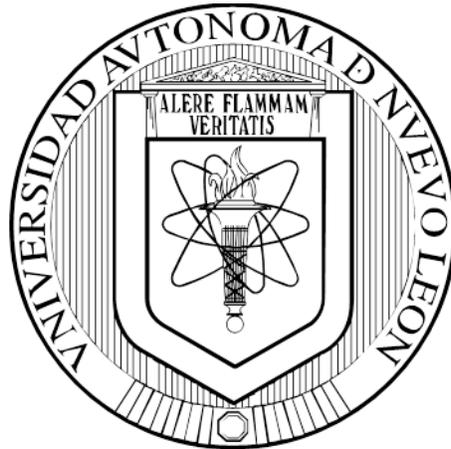
**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

**DICIEMBRE, 2018**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**TESIS**

**EFFECTO DE LA HORMONA GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA  
(eCG) POST INSEMINACIÓN EN VACAS DE CARNE**

**PRESENTA**

**RUBÉN MOISÉS LÓPEZ CHAVARRÍA**

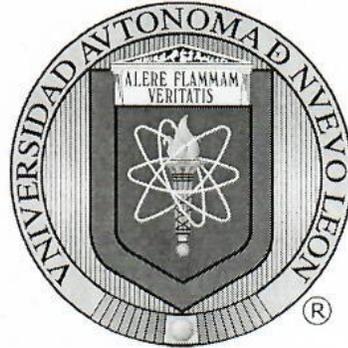
**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

**DICIEMBRE, 2018**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



TESIS

EFFECTO DE LA HORMONA GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA (eCG)  
POST INSEMINACIÓN EN VACAS DE CARNE

Aprobación de Tesis de Maestría en Ciencia Animal  
por el comité particular de:

MVZ. Rubén Moisés López Chavarría

Dr. Rogelio Alejandro Ledezma Torres  
Director de tesis

Dr. Fernando Sánchez Dávila  
Co-director

Dr. Francisco Javier Picón Rubio  
Co-director

M.C. Gustavo Moreno Degollado  
Co-director

MC. Nelson Manzanares Miranda  
Co-director

## AGRADECIMIENTOS

Me siento agradecido con Dios por darme la oportunidad de realizar uno de mis sueños que es superarme en lo profesional mediante mis estudios de maestría. Le agradezco por guiarme y darme fortaleza en los momentos más difíciles y a la vez poner en mi camino a las personas correctas.

A mi familia que estuvo apoyándome en cada momento, compartiendo conmigo cada experiencia y siempre motivándome a seguir adelante, y en especial a mi esposa Sara Padilla e hijo León López.

Al CONACYT por la beca otorgada durante dos años de estudios de maestría.

Al centro de investigación en Producción Agropecuaria unidad Linares y a la Unidad académica de Marín de la Facultad de Agronomía ambas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, que amablemente me permitieron el uso de sus instalaciones y material para desarrollar el trabajo de investigación.

Al Dr. Rogelio Alejandro Ledezma Torres por su tiempo en asesorar el trabajo de investigación y por aceptarme en su equipo de trabajo.

Al Dr. Fernando Sánchez Dávila por su apoyo y por brindarme su conocimiento el cual fue fundamental para hacer este proyecto.

Al Dr. Gustavo Moreno Degollado por proporcionarme el tiempo y soporte para la realización de la tesis.

Al Dr. Nelson Manzanares por participar con su conocimiento y apoyo para que el trabajo de investigación se completara con la mejor calidad posible.

A mis compañeros que durante dos años hicieron placentera mi estancia, a pesar de ser nuevo en la ciudad, siempre me sentí confortado y apoyado en cada instante gracias y que Dios los bendiga.

## **DEDICATORIAS**

Principalmente a Dios por fortalecerme y guiarme en esta etapa de mi vida, la cual fue difícil, pero con esfuerzo y perseverancia resulto de beneficio. También, la dedico a mi familia por ser parte importante en la realización de esta tesis, sin ellos no hubiera sido posible alcanzar este proyecto.

A mis compañeros de maestría y licenciatura que fueron parte importante en la realización de este proyecto, que al igual que yo, pasamos por momentos de dificultad, pero al final obtuvimos la recompensa de ser Masters en nuestras áreas de estudio.

Al posgrado conjunto Agronomía-Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León, campus Ciencias Agropecuarias.

También, quiero dedicar esta tesis a la Universidad Autónoma de Nuevo León y en especial a sus centros de investigación: Centro de Investigación en Producción Agropecuaria en Linares NL, Unidad Académica de la Facultad de Agronomía en Marín NL y el laboratorio de reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, campus Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

## ABREVIATURAS

<b>ANOVA</b>	<b>Análisis de Varianza</b>
<b>CG</b>	<b>Células de la granulosa</b>
<b>CIDR</b>	<b>Dispositivo intravaginal liberador de progesterona</b>
<b>CL</b>	<b>Cuerpo Lúteo</b>
<b>FDs</b>	<b>Folículos dominantes</b>
<b>CLs</b>	<b>Cuerpos lúteos accesorios</b>
<b>CLch</b>	<b>Células lúteas chicas</b>
<b>CLG</b>	<b>Células lúteas grandes</b>
<b>CT</b>	<b>Células de la teca</b>
<b>eCG</b>	<b>Gonadotropina coriónica equina</b>
<b>FSH</b>	<b>Hormona folículo estimulante</b>
<b>GnRH</b>	<b>Hormona liberadora de gonadotropinas</b>
<b>H</b>	<b>Horas</b>
<b>hCG</b>	<b>Gonadotropina coriónica humana</b>
<b>IA</b>	<b>Inseminación artificial</b>
<b>INT-t</b>	<b>Interferón tau</b>
<b>LH</b>	<b>Hormona luteinizante</b>
<b>P4</b>	<b>Progesterona</b>
<b>PGF2<math>\alpha</math></b>	<b>Prostaglandinas F2<math>\alpha</math></b>
<b>UI</b>	<b>Unidades internacionales</b>

## INDICE DE CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>I</b>
<b>DEDICATORIAS .....</b>	<b>II</b>
<b>ABREVIATURAS .....</b>	<b>III</b>
<b>INDICE DE FIGURAS Y TABLAS .....</b>	<b>VI</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>VIII</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>IX</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>3. HIPÓTESIS.....</b>	<b>4</b>
<b>4. OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>5</b>
<b>4. 1. Objetivos específicos.....</b>	<b>5</b>
<b>5. REVISION DE LITERATURA .....</b>	<b>6</b>
<b>5. 1. Ciclo estral en bovinos.....</b>	<b>6</b>
<b>5. 1. 1. Fase folicular .....</b>	<b>6</b>
<b>5. 1. 2. Fase lútea .....</b>	<b>7</b>
<b>5. 2. Dinámica folicular .....</b>	<b>8</b>
<b>5. 3. Mecanismo de luteinización de las células foliculares y la ovulación en bovinos .....</b>	<b>8</b>
<b>5. 4. Formación, desarrollo y regresión del cuerpo lúteo .....</b>	<b>9</b>
<b>5. 5. Síntesis y secreción de progesterona .....</b>	<b>10</b>
<b>5. 6. Síntesis de la hormona gonadotropina coriónica equina y su utilidad en rumiantes.....</b>	<b>11</b>

<b>5. 7. Efecto de la progesterona post-IA y supervivencia embrionaria en rumiantes</b>	<b>12</b>
<b>5. 8. Tratamientos utilizados post-IA para mejorar la funcionalidad del CL y aumentar los porcentajes de gestación en vacas</b>	<b>12</b>
<b>5. 9. Suplementación con progesterona post-IA</b>	<b>13</b>
<b>5. 10. Administración de hCG y GnRH post-IA</b>	<b>14</b>
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>15</b>
<b>6. 1. Lugar del estudio</b>	<b>15</b>
<b>6. 2. Animales experimentales, mantenimiento y alimentación</b>	<b>15</b>
<b>6. 3. Sincronización del estro e inseminación artificial</b>	<b>15</b>
<b>6. 4. Ultrasonografía para medir y contar las estructuras ováricas</b>	<b>16</b>
<b>6. 5. Diseño experimental y análisis estadístico</b>	<b>16</b>
<b>7. RESULTADOS</b>	<b>17</b>
<b>7. 1. Diámetro del cuerpo lúteo</b>	<b>17</b>
<b>7. 2. Diámetro del folículo dominante</b>	<b>18</b>
<b>7. 3. Cantidad de cuerpos lúteos</b>	<b>19</b>
<b>7. 4. Cantidad de folículos dominantes</b>	<b>20</b>
<b>7. 5. Porcentajes de gestación</b>	<b>21</b>
<b>8. DISCUSIÓN</b>	<b>22</b>
<b>9. CONCLUSIÓN</b>	<b>25</b>
<b>10. LITERATURA CITADA</b>	<b>26</b>

## INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

<b>Figura y/o Tabla</b>	<b>Página</b>
<b>1. Efecto de la administración de eCG sobre el diámetro (Media <math>\pm</math> E.E) del cuerpo lúteo de acuerdo con los tratamientos; T1: Testigo o sin eCG n=5, T2: 400 UI de eCG al momento de la IA n=6 y T3: 400 UI de eCG seis días post-IA n=2, durante los días 6, 7 y 8 post-IA, y diámetro del CL entre los días 6, 7 y 8 post-IA independientemente de los tratamientos</b> .....	17
<b>2. Efecto de la administración de eCG sobre el diámetro del folículo dominante (Media <math>\pm</math> E.E) de acuerdo con los tratamientos; T1: Testigo o sin eCG n=5, T2: 400 UI de eCG al momento de la IA n=6 y T3: 400 UI de eCG seis días post-IA n=2, en los días 6, 7 y 8 post-IA, y diámetro del folículo dominante entre los días 6, 7 y 8 post-IA independientemente de los tratamientos</b> .....	18
<b>3. Efecto de la administración de eCG sobre la cantidad de CLs (Media <math>\pm</math> E.E) de acuerdo con los tratamientos; T1: Testigo o sin eCG, T2: 400 UI de eCG al momento de la IA y T3: 400 UI de eCG seis días post-IA, en los días 6, 7 y 8 post-IA, y cantidad de CLs entre los días 6, 7 y 8 post-IA independientemente de los tratamientos</b> .....	19
<b>4. Efecto de la administración de eCG sobre la cantidad de FDs (Media <math>\pm</math> E.E) de acuerdo con los tratamientos; T1: Testigo o sin eCG, T2: 400 UI de eCG al momento de la IA y T3: 400 UI de eCG seis días post-IA en los días 6, 7 y 8 post-IA, y cantidad de FDs entre los días 6, 7 y 8 post-IA independientemente de los tratamientos</b> .....	20
<b>Tabla 1. Se muestran el porcentaje de gestación de acuerdo</b>	

con los tratamientos (T1: testigo o sin eCG (n=19), T2: 400 UI de eCG al momento de la IA (n=15), T3: 400 UI de eCG seis días post-IA (n=15) (P>0.05) .....	21
---	----

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la administración de 400 UI de la hormona eCG al momento de la inseminación artificial (IA) y/o seis días posteriores a la IA sobre las estructuras ováricas en vacas de carne. Los animales experimentales incluidos en el presente estudio fueron 49 vacas de la raza Simmental y Simbrah con un rango de número de partos de 1 a 9, condición corporal 4-6 y días abiertos de  $93.8 \pm 47.9$ . La sincronización de los estros para IA fue por medio de un protocolo a base de estradiol y progesterona, después de la detección del estro y la IA las vacas fueron divididas en forma aleatoria en tres tratamientos; T1: Testigo o sin eCG, T2: 400 UI de eCG al momento de la IA y T3: 400 UI de eCG 6 días post-IA. La medida de las estructuras ováricas fue por medio de ultrasonografía durante los días 6, 7 y 8 post-IA, y fueron analizadas las siguientes variables; diámetro: del cuerpo lúteo (CL) y folículo dominante (FD); cantidad: cuerpos lúteos (CLs) y folículos dominantes (FDs) en los días 6, 7 y 8 post-IA. El diagnóstico de gestación fue por medio de ultrasonografía en los días 45 post-IA. Los resultados del diámetro del CL y FD no fueron diferentes ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos T1, T2 y T3, sin embargo, si hubo diferencia ( $P < 0.05$ ) en el diámetro del CL y FD en los días 6, 7 y 8 post-IA independiente de los tratamientos. Los resultados en la cantidad de CLs y FDs no fueron diferentes entre tratamientos, sin embargo, si hubo diferencia en T1 en los días 6 y 7 post-IA y no se observó diferencia el día 8 post-IA. Los resultados de gestación no fueron diferentes ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos a los 45 días post-IA. En conclusión, se determina que la administración de 400 UI de eCG al momento de la IA y/o seis días post-IA no tiene efecto en el diámetro del CL, diámetro del FD, cantidad de CLs ni cantidad de folículos observados y medidos por medio de ultrasonografía en los días 6, 7 y 8 post-IA, ni efecto en los porcentajes de gestación a los 45 días post-IA en vacas de carne.

## ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the effect of the administration of 400 IU of eCG at the time of artificial insemination or six days after AI over the ovarian structures in beef cows. The experimental animals included in the present study were 49 beef cows with a calving number ranging from 0-9 and a body condition score ranging from 4 to 6. The estrus synchronization for the AI was based on a progestogens and estrogens protocol, after the AI a subgroup of cows were divided at random into the three different treatments; T1: Control or without eCG n=5, T2: 400 IU of eCG at the time of AI n=6 and T3: 400 IU of eCG six days after AI n=2. The ovarian structures were scanned and measure by ultrasonography during days 6-8 after IA into the three different treatments. The dependent variables were: diameter of the corpus luteum (CL) and diameter of the dominant follicle (DF), number of corpus luteum (CLs) and number of dominant follicles (DFs) during days 6-8 after IA. The results of the diameter of the CL and the DF were not different ( $P>0.05$ ) between the three different treatments into the days 6-8 after IA, however, we found differences ( $P<0.05$ ) in the diameter of the CL and DF between days 6 and 7 and between days 6 and 8 after IA in an independent manner of the treatments. The number of CLs and DFs were not different in to the treatments; however, we found differences in the control treatment (T1) between days 6 and 7 but not differences on day 8 after AI. Pregnancy rate were not different in the treatments ( $P>0.05$ ). In conclusion, the administration of 400 IU of eCG at the time of AI or six days after AI has not effect on the diameter of the CL, DF, number of CLs and number of DFs observe and measured by ultrasonography during days 6-8 after AI, neither effect on pregnancy rate 45 days after AI in beef cows between the treatments.

# 1. INTRODUCCIÓN

Los productos de origen animal son las principales fuentes de alimento para la población y se estima que para el año 2030 la demanda de ellos aumente (FAO, 2016). En México, la ganadería bovina es un área de oportunidad para crecer dentro del sector agropecuario. Por lo anterior, se requiere la implementación de biotecnologías reproductivas y nutricionales para mejorar y aumentar la productividad de los hatos ganaderos. Un paquete reproductivo que se le ha dado gran impulso ha sido lo relacionado con la sincronización de estro y la ovulación, inseminación artificial, inseminación artificial a tiempo fijo y la transferencia de embriones (FAO, 2016). Sin embargo, los resultados obtenidos por estas técnicas reproductivas no siempre han sido los esperados debido a factores que influyen en la reproducción (Santos et al., 2004). Las pérdidas embrionarias considerando una tasa de fertilidad de 90% en bovinos son alrededor del 40% de las cuales el 70 % son dentro de los primeros 16 días posteriores a la IA (Post-IA) (Diskin & Morris, 2008). En la gestación temprana el embrión inicia el proceso de reconocimiento materno para inhibir la liberación de las prostaglandinas F<sub>2</sub> (PGF<sub>2α</sub>) uterinas y así mantener el cuerpo lúteo (CL) (Mann GE & Lamming GE, 2001). En los primeros días después de la ovulación y durante la gestación temprana, el CL aumenta su tamaño y la secreción de progesterona (P4). Del día 5 al 8 después de la ovulación el tamaño del CL y su capacidad de aumentar la secreción de P4 es fundamental para el desarrollo embrionario y el reconocimiento materno de la preñez (Mann, 2009). El CL es una glándula transitoria que sintetiza y secreta P4 durante la mayor parte del ciclo estral (CE) y durante la gestación (Niswender et al., 2000). Para su formación y desarrollo el CL requiere el efecto de la hormona luteinizante (LH), la cual inicia y regula su función y desarrollo. La hormona LH a parte de inducir el proceso de luteinización y la ovulación, tiene un efecto en el desarrollo del CL, aumentando su funcionalidad y la secreción de P4 (Berisha & Schams, 2005). El desarrollo del CL se ha estudiado durante años, y se observa que un mal funcionamiento del CL retrasa el aumento de P4 y no alcanza el aumento necesario, el cual es una de las principales causas de pérdidas gestacionales tempranas en vacas (Robinson, 2005). Por tal motivo se han implementado estrategias que aumentan el tamaño del CL y elevan las

concentraciones de P4, siendo las principales estrategias: la administración de hormonas luteotóxicas con efecto directo e indirecto en el CL después de la IA y la suplementación exógena de P4 para aumentar la funcionalidad y los niveles de P4 por el CL. Algunos de los estudios son la reutilización de un dispositivo liberador de progesterona (CIDR) post-AI (Ledezma et al., 2015; Montes et al., 2017), la aplicación de hormonas con efecto directo e indirecto en el CL (hCG, eCG y GnRH) (Bartolomé et al., 2012; García-Pintos & Menchaca, 2016). La hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) es sintetizada por células de la placenta que llegan al útero y forman las copas endometriales en las yeguas en gestación, su efecto en el CL es igual a la hormona hipofisaria LH (Murphy, 2012) aumentando los niveles de P4 para mantener la gestación en yeguas (Boeta & Zarco, 2012). En especies distintas a los equinos, la eCG tiene efecto parecido a las hormonas hipofisarias: folículo estimulante (FSH) y LH con vida media biológica de ~ 40 horas (h) de efecto en el organismo (Martinuk et al., 1991). En bovinos se ha demostrado su efecto FSH y LH induciendo crecimiento folicular en protocolos de sincronización para IATF, las dosis más utilizadas son de 300-400 unidades internacionales (UI) (Pessoa et al., 2016; Sá Filho et al., 2010). También, se utiliza en la sincronización del estro de hembras receptoras de embriones (Bó et al., 2012). En estudios recientes la eCG se ha utilizado en combinación con otras hormonas en tratamientos después de la IA para mejorar la funcionalidad del CL y la formación de cuerpos lúteos accesorio (CLs) aumentando los porcentajes de gestación en rumiantes (Bartolomé et al., 2012; García-Pintos & Menchaca, 2016). Por otra parte, los estudios con la utilización de la hormona eCG post-IA para aumentar el tamaño del CL y/o formar CLs ha sido reciente y requiere de estudios para determinar el efecto de la hormona eCG en las estructuras ováricas durante la gestación temprana.

## 2. JUSTIFICACIÓN

La función inadecuada del CL resulta en bajos niveles de P4 después de la ovulación, y es una de las principales causas de pérdidas de gestación temprana en vacas. Los protocolos utilizados para la sincronización del estro y la ovulación en vacas, se modifican para mejorar la sincronía y formar un CL grande y funcional. Otra de las formas para formar un CL funcional es la administración de hormonas con efecto directo e indirecto en el mismo CL después de la ovulación. Las hormonas administradas con efecto directo e indirecto en el CL después de la ovulación tienen como objetivo aumentar su tamaño y funcionalidad como también formar CLs. La hormona eCG al igual que las hormonas luteotrópicas tiene efecto LH, y a diferencia de las demás hormonas tiene una vida media biológica de 2 días en el organismo, lo cual la hace diferente de otras hormonas luteotrópicas, por lo tanto, la eCG tendría un efecto prolongado en el CL para aumentar su tamaño y funcionalidad.

### **3. HIPÓTESIS**

La administración de 400 UI de la hormona eCG al momento de la IA y/o seis días post-IA aumenta el tamaño del CL, induce formación de CLs, aumenta el tamaño del folículo dominante y la cantidad de folículos dominantes por su efecto FSH y LH, durante los días 6, 7 y 8 post-IA.

## **4. OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto de la administración de 400 UI de la hormona eCG al momento de la IA y/o seis días post-IA en el diámetro del CL, diámetro del folículo dominante, la cantidad de cuerpos lúteos y cantidad de folículos dominantes durante los días 6, 7 y 8 post-IA en vacas de carne.

### **4. 1. Objetivos específicos**

1.- Determinar el efecto de la administración de 400 UI de la hormona eCG al momento de la IA y/o seis días post-IA en el diámetro del CL, observado por medio de ultrasonografía durante los días 6, 7 y 8 post-IA de acuerdo con los tratamientos (T1: Testigo o sin eCG, T2: 400 UI de eCG al momento de la IA y T3: 400 UI de eCG 6 días post-IA).

2.- Determinar el efecto de la administración de 400 UI de la hormona eCG al momento de la IA y/o seis días post-IA en el diámetro del folículo dominante, por medio de ultrasonografía durante los días 6, 7 y 8 post-IA, de acuerdo con los tratamientos (T1: Testigo o sin eCG, T2: 400 UI de eCG al momento de la IA y T3: 400 UI de eCG 6 días post-IA).

3.- Determinar el efecto de la administración de 400 UI de la hormona eCG al momento de la IA y/o seis días post-IA en la cantidad de cuerpos lúteos y la cantidad de folículos dominantes, observados por medio de ultrasonografía durante los días 6, 7 y 8 post-IA, de acuerdo con los tratamientos (T1: Testigo o sin eCG, T2: 400 UI de eCG al momento de la IA y T3: 400 UI de eCG 6 días post-IA).

## **5. REVISION DE LITERATURA**

### **5. 1. Ciclo estral en bovinos**

El CE representa la actividad ovárica en el cual se facilita el paso de las hembras de un período de no receptividad reproductiva a la receptividad reproductiva, permitiendo así la gestación. La duración de un CE en vacas es de 18-24 días con promedio de 21 días, en el cual se observan de 2 a 3 oleadas foliculares. El CE consiste en dos fases y cuatro etapas; la fase lútea con dos etapas: metaestro y diestro, la fase folicular con dos etapas: proestro y estro (Forde et al., 2011). Durante cada CE, los folículos ováricos experimentan una serie de cambios morfológicos, bioquímicos y fisiológicos de los cuales resulta la ovulación (Hansel & Convey, 1983). El CE inicia después de la ovulación y termina en la subsecuente ovulación, en otras palabras, la ovulación marca el inicio y el final de cada CE (Sartoli et al., 2004). Después de la ovulación se libera la hormona FSH observándose el crecimiento de un grupo de folículos de aproximadamente 4 milímetros de diámetro dependientes de la hormona FSH (Adams et al., 2008). El CE es regulado por efectos de retroalimentación positiva y negativa entre las glándulas reproductivas y las hormonas que secretan: el hipotálamo (GnRH), la glándula pituitaria anterior (FSH y LH), el CL (P4, oxitocina, PGF<sub>2α</sub>) el folículo dominante (estradiol e inhibina) y las glándulas uterinas (PGF<sub>2α</sub>) (Hafez & Hafez, 2000). Estos eventos de retroalimentación positiva y negativa regulan el ciclo estral, sus fases y etapas (Roche, 1996).

#### **5. 1. 1. Fase folicular**

La fase folicular en el CE se divide en dos etapas: proestro y estro (Galina & Valencia, 2008). El proestro es el periodo que sigue a la regresión del CL por las PGF<sub>2α</sub> al término del diestro, disminuyendo la secreción de P4 y su efecto de retroalimentación negativa que ejerce en el hipotálamo (Quirk & Fortune, 1986; Sunderland et al., 1994). El proestro termina cuando inicia el estro o periodo de receptividad de la vaca (Hafez & Hafez, 2003). Durante el proestro se observa el aumento de la hormona LH la cual estimula el desarrollo folicular y la ovulación (Stumpf et al., 1989; Gilbert et al., 2011).

El comportamiento del estro es inducido por los estrógenos principalmente el 17- $\beta$  estradiol sintetizado en las células de la granulosa (CG), el aumento de los estrógenos induce el comportamiento del estro y el pico preovulatorio de la hormona LH (Fortune & Quirk, 1988; Kaneko et al., 1995).

### **5. 1. 2. Fase lútea**

La fase lútea se divide en dos etapas: metaestro y diestro. El metaestro inicia cuando termina la receptividad sexual de la vaca (Guaqueta, 2009) y concluye en el momento en que el CL inicia la secreción de P4 (Boer et al., 2011). El metaestro se caracteriza por los niveles bajos de estradiol (E2) debido al proceso de luteinización (Luo et al., 2011), también en esta etapa después de la ovulación se observa el surgimiento de un grupo de folículos dependientes de la hormona FSH. Durante esta etapa en el útero ocurre la fertilización (Fortune, 1994). El final de la etapa del metaestro se caracteriza por el inicio en el aumento de P4 por el CL (Mesquita et al., 2014), aumentando en forma progresiva los niveles de P4, e iniciando la etapa del diestro, regulando el crecimiento folicular. En el útero, se inicia la actividad secretora de nutrientes para el desarrollo embrionario (Lonergan et al., 2013). Al término del metaestro inicia la fase de diestro, y se considera la etapa más larga del CE, esta etapa se caracteriza por la plena funcionalidad del CL y el aumento de la secreción de P4 hasta la regresión del CL (Carter et al., 2008; Acosta et al., 2002). En la parte final del metaestro y el inicio del diestro las CG y las células de la teca (CT) se han convertido en células lúteas: células lúteas grandes (CLG) y células lúteas chicas (CLCH) que sintetizan y secretan P4 por el CL (Niswender et al., 2000). El aumento de los niveles de P4 a partir del día 5 post-ovulación es debido a la madurez del CL (Davis et al., 2003) en donde las células lúteas han adquirido la capacidad para secretar progesterona, aumentando y manteniendo los niveles normales durante el diestro (Niswender, 2002). Al finalizar la fase lútea (días 16-18 post-ovulación) el útero no grávido secreta PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  e induce la regresión del CL, disminuyendo la secreción de P4 e iniciando una nueva fase folicular (Pate et al., 2012; Lee et al., 2010).

## **5. 2. Dinámica folicular**

El desarrollo de los folículos ováricos es un proceso fisiológico fundamental en la reproducción de rumiantes, este desarrollo folicular es en forma de oleadas foliculares las cuales son de 2 a 3 por CE, la primera oleada folicular en un CE inicia después de la ovulación, la segunda oleada folicular en CE de tres oleadas inicia entre los días 8-9 y la tercera oleada inicia de 15-16 días después de la ovulación, en CE de dos oleadas foliculares la segunda inicia el día 9-10 (Adams, 2008). Las oleadas foliculares consisten en tres etapas: surgimiento folicular, dominancia folicular, la ovulación (Jaiswal et al., 2004). El crecimiento de una oleada folicular es caracterizado por el aumento de la hormona FSH después de la ovulación, y en el caso de no ocurrir la ovulación, después de la atresia folicular aumenta la FSH, observándose un nuevo grupo de folículos (Lucy, 2007). Después del surgimiento de una oleada folicular, un folículo de aproximadamente 8.5 mm de diámetro (Ginther et al., 2001) alcanza el estadio de dominancia e inhibe el crecimiento de los demás folículos por medio de la hormona inhibina y el 17- $\beta$  estradiol (Ginther et al., 2002). A medida que el folículo dominante emerge del grupo de folículos su tamaño aumenta hasta la ovulación por medio del efecto de las hormonas FSH y LH (Luo et al., 2011). El desarrollo del folículo dominante hasta la ovulación es regulado por la hormona LH, ya que el folículo dominante ha adquirido receptores LH en las CG, aumentando en forma progresiva los niveles de E2 e induciendo el pico preovulatorio de LH y la ovulación (Haughian et al., 2013).

## **5. 3. Mecanismo de luteinización de las células foliculares y la ovulación en bovinos**

El mecanismo de luteinización folicular inicia por medio de la hormona LH durante el surgimiento preovulatorio de la misma, la cual inicia una serie de cambios bioquímicos en las CG y de la teca para su diferenciación a células lúteas que sintetizan y secretan P4 (Gilbert et al., 2011). La hormona LH activa enzimas necesarias para la síntesis y secreción de P4 y al mismo tiempo disminuye la síntesis de enzimas que sintetizan E2 (Gutiérrez et al., 1997). Las enzimas que convierten el colesterol a P4 son: la enzima del complejo de desdoblamiento de la cadena lateral del colesterol (P-450<sub>scc</sub>) y la enzima

3 $\beta$  hidroxisteroide deshidrogenasa (3 $\beta$ -HSD) enzimas activadas por la hormona LH para iniciar la síntesis de P4 (Niswender et al., 2000). La ovulación de folículo preovulatorio es un proceso complejo e implica la interacción de la hormona LH y factores locales en el folículo para la ovulación, las prostaglandinas PGE2 y la P4 también intervienen en la ovulación (Espey, 1980; Ferreira et al., 2007).

#### **5. 4. Formación, desarrollo y regresión del cuerpo lúteo**

El CL es una glándula endocrina transitoria que se forma después de la ovulación, y su principal función es producir P4 para regular el CE y el mantenimiento de la gestación (Niswender, 2000; Tomac et al., 2011). La formación del CL inicia por el proceso de luteinización de las células foliculares a células lúteas, este proceso inicia antes de la ovulación y sigue después de la ovulación por medio de la diferenciación de las CG y CT a células lúteas que sintetizan P4 (Redmer & Raynols, 1996; Rekawiecki et al., 2008). Después de la ovulación, en el remanente folicular llegan células endoteliales y fibroblastos que se reorganizan y forman un CL funcional (Berisha et al., 2006). El desarrollo y maduración del CL depende de un proceso de angiogénesis en donde las células endoteliales forman capilares que se unen a células lúteas que sintetizan P4 (Davis et al., 2003). El CL es una glándula con diferentes procesos durante su formación: luteinización, desarrollo y regresión (Woad & Robinson, 2016). En rumiantes, las principales hormonas luteotropicas en el desarrollo y función del CL son la hormona LH y la hormona del crecimiento GH (Berisha & Schams, 2005). El desarrollo del CL depende de varios tipos de células que aseguran el desarrollo normal del CL (Milvae et al., 1996). Al igual que los folículos el CL depende del proceso de angiogénesis para el suministro de lipoproteínas para la síntesis de P4 a través del colesterol. El flujo sanguíneo en el folículo disminuye después de la ovulación, y aumenta de 2-3 días posterior a la ovulación, en este tiempo se observa el aumento en la secreción de P4 (Davis et al., 2003), y más aún entre los días 5-8 después de la ovulación (O' Hara et al., 2014; Mann, 2009). El aumento de tamaño del CL es regulado, a parte del proceso de angiogénesis, por la hipertrofia y proliferación de las células lúteas durante el desarrollo del CL (Meidan et al., 1990). Mann, 2009 en un

estudio retrospectivo observo la relación que existe en el volumen del CL durante los días 5-8 del CE y el aumento de la secreción de P4. La regresión del CL es mediada por las PGF2 $\alpha$  e inicia a los 17-18 días del CE, disminuyendo su funcionalidad y la secreción de P4 (Hojo et al., 2009; Acosta et al., 2002). La síntesis y liberación de 17 $\beta$ -estradiol por el folículo dominante inicia la formación de receptores de oxitocina en el útero (Leung & Wathes, 2000) en donde la oxitocina liberada por la hipófisis y el CL se une a sus receptores uterinos e inicia la síntesis y liberación de PGF2 $\alpha$  (Stormshak, 2003; Berisha et al., 2010). Una vez que las PGF2 $\alpha$  llegan al CL reducen el aporte sanguíneo y causan la pérdida de la funcionalidad del CL (Wright et al., 2001).

### **5. 5. Síntesis y secreción de progesterona**

La P4 es una hormona de origen esterooidal sintetizada por el CL y en menor cantidad por las glándulas suprarrenales durante la mayor parte del CE y la gestación (Inskeep, 2004; Lonergan et al., 2013). La actividad de enzimas para sintetizar P4 en el CL inicia después del surgimiento preovulatorio de la hormona LH, la cual inicia el proceso de luteinización de las células foliculares (Stocco et al., 2007). Durante este tiempo las células foliculares se diferencian a células lúteas por medio de la hormona LH activando enzimas que convierten el colesterol a P4 (Niswender et al., 2000) aumentando los niveles de P4 en el CE y la gestación (Wiltbank et al., 2014). El inicio en el aumento de P4 por el CL se observa de 2-3 días después de la ovulación, este aumento es regulado por medio del proceso de luteinización y angiogénesis (Acosta et al., 2003). El proceso de luteinización y angiogénesis en el CL sigue en el día 5 después de la ovulación, el cual aumenta de tamaño el día 5-8 después de la ovulación, y a partir del día 8 a 14 la secreción de P4 sigue en aumento pero no el volumen del CL. La secreción de P4 durante el CE alcanza un pico máximo entre los días 10 y 14 después de la ovulación, y continúa aumentando durante la gestación, si la gestación no ocurre la P4 disminuye alrededor del día 17-18 debido al proceso de luteólisis (Mann, 2009; Peters et al., 1994; Miyamoto & Shirasuna, 2009).

## **5. 6. Síntesis de la hormona gonadotropina coriónica equina y su utilidad en rumiantes**

La hormona eCG es una glucoproteína sintetizada en las yeguas en gestación. La estructura química de la eCG son dos subunidades: alfa y beta, las cuales, son idénticas a las subunidades de la hormona LH en las yeguas (Murphy, 2012). El aumento de eCG durante los días 40-120 de la gestación en yeguas se observa con el aumento de progesterona, este aumento es más a los 50-70 días de preñez cuando los niveles de eCG aumentan de 20 UI/ml a 300 UI/ml y se observa la formación de CLs con aumento en los niveles de progesterona, y se mantiene así durante la primera mitad de la gestación hasta el momento en que la placenta sintetiza progesterona suficiente para mantener la gestación (Boeta & Zarco, 2012; Allen, 2001). La eCG se utiliza en protocolos de sincronización del estro y la ovulación en la reproducción asistida en rumiantes. En bovinos su efecto es parecido a las hormonas hipofisarias FSH y LH estimulando crecimiento folicular y la ovulación (Tortorella et al., 2013). La vida media biológica de la eCG en el organismo en rumiantes es de por lo menos 40 h debido a la cantidad de ácido siálico el cual constituye el 45% de su peso molecular (Murphy & Martinuk, 1991). La eCG ha sido utilizada en protocolos de ovulación múltiple para transferencia embrionaria (González et al., 1994), sin embargo, su efecto LH y la dosis (2500 UI) resultan en mayor cantidad de embriones no transferibles (Martinuk et al., 1991). En la actualidad la administración de 300-500 UI de eCG se utiliza en protocolos de sincronización del estro y la ovulación (Pessoa et al., 2016) para IA e IATF (Small et al., 2009) en vaquillas y vacas en baja condición corporal (Sales et al., 2011; Sá Filho et al., 2010). También es utilizada en la sincronización del estro en vacas receptoras de embriones (Bó et al., 2012; Looney et al., 2006), y en pequeños rumiantes en la sincronización del estro y la ovulación (Sawalha et al., 2011), así mismo en estudios recientes se ha estudiado su aplicación después de la IA por su efecto LH ya que aumenta la funcionalidad del CL (García-Pintos & Menchaca, 2016), y algunos estudios se ha utilizado en combinación con hormonas luteotropicas como la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) después de la IA en rumiantes (Bartolomé et al., 2012).

### **5. 7. Efecto de la progesterona post-IA y supervivencia embrionaria en rumiantes**

La P4 estimula cambios fisiológicos en el útero para la secreción de nutrientes esenciales en el desarrollo embrionario y el reconocimiento materno de la preñez. Este efecto de la P4 en el útero es por medio de realizar cambios para pasar de un estado proliferativo a un estado de secreción de nutrientes de los cuales dependerá el desarrollo embrionario y su capacidad para realizar el reconocimiento materno de la preñez (Forde et al., 2011; Forde & Lonergan, 2012; Okumu et al., 2010). El reconocimiento materno de la preñez inicia por medio de la secreción de proteínas embrionarias, principalmente el interferón tau (IFNT-t), el cual inhibe la formación de receptores para oxitocina en el útero, inhibiendo la liberación de PGF<sub>2α</sub> y manteniendo el CL (Forde et al., 2011). En estudios se ha demostrado que el aumento de los niveles de P4 post-IA estimula el desarrollo embrionario y el reconocimiento materno (Forde et al., 2009), mientras tanto, los niveles subóptimos de P4 y un retraso en el aumento de P4 post-IA puede retardar el crecimiento y desarrollo embrionario perdiéndose la gestación. La suplementación de P4 post-IA por medio de un CIDR administrado días después de la IA aumenta la supervivencia embrionaria en vacas en riesgo de pérdida de gestación (Wiltbank et al., 2012).

### **5. 8. Tratamientos utilizados post-IA para mejorar la funcionalidad del CL y aumentar los porcentajes de gestación en vacas**

Los tratamientos más utilizados post-IA para aumentar y regular las concentraciones de P4 actúan por medio de mejorar la funcionalidad del CL, inducir la formación de CLs y/o por medio de la suplementación exógena de P4 (Lamb et al., 2010). Estos tratamientos consisten en la administración de diferentes hormonas con efecto directo (hCG, LH y eCG) e indirecto (GnRH) en el CL para mejorar su funcionalidad y mantener la gestación (Rizos et al., 2012; Khoramian et al., 2011). En estudios con vacas lecheras y de carne se ha encontrado la relación que existe entre las concentraciones de P4 en los primeros días post-IA y su efecto en el desarrollo embrionario. En un estudio en vacas lecheras realizado por Stevenson et al (2007) administraron 3,300 UI de hCG y 100 µg de la hormona liberadora de gonadotropinas

(GnRH) post-IA, ellos encontraron efecto en el tamaño del CL y la formación de CLs, aumentando las concentraciones de P4 y los porcentajes de gestación, así mismo Maillo et al (2013) en vaquillas de carne administraron 3000 UI de hCG en diferentes días posteriores a la detección del estro y encontraron aumento de tamaño del CL y la formación de CLs con subsecuente aumento de la preñez, por otra parte Dahlen et al (2010) administraron 1000 UI de hCG el día 7 post-IA en vacas adultas y encontraron aumento de tamaño del CL, formación de CLs y aumento en porcentajes de gestación. Beltrán y Vasconcelos (2008) en vacas lecheras administraron 100 µg de GnRH y 2500 UI de hCG en vacas lecheras bajo estrés por calor, y encontraron la formación de un CL accesorio y aumento en la gestación. Los resultados de los diferentes trabajos remarcan la importancia en la óptima funcionalidad del CL y el aumento en las concentraciones de P4 para mantener la gestación en vacas.

#### **5. 9. Suplementación con progesterona post-IA**

La suplementación de progesterona durante los primeros días post-IA aumenta el desarrollo embrionario y la preñez (Barnwell et al., 2015; Clemente et al., 2009). En estudios recientes la administración de P4 post-IA aumento los porcentajes de gestación en vacas lecheras y de carne. Por ejemplo, Ledezma et al (2015) y Monteiro et al (2014) encontraron en vacas de carne y lecheras aumento de los porcentajes de preñez con la aplicación de un CIDR reutilizado, aplicado el día 4-5 post-IA por 7-14 días. Por otra parte, Colazo et al (2013) encontraron reducción en la preñez en vacas lecheras suplementadas con P4 post-IA, Montes-Quiroz et al (2017) en cabras sincronizadas con un CIDR de 1.9 g de P4 y su reutilización post-IATF no encontraron aumento en los porcentajes de gestación. Además de los estudios mencionados se ha administrado P4 durante los días 3-9 post-IA (Carter et al., 2008) encontrando resultados variados. De esta manera, se menciona la importancia en los días en que la P4 debe aumentar e inducir cambios fisiológicos en el útero que favorecen el desarrollo embrionario (Garret et al., 1998). También, en otros estudios los niveles elevados de P4 y el tiempo en que se administró son un factor que determina el efecto de la P4, reduciendo los días en que ocurre la regresión del CL, afectando la gestación (Clemente et al., 2009). En varios

estudios realizado en bovinos se ha demostrado que la suplementación de P4 a través de la inserción del CIDR en los días 5-21 aparte de la resincronización del estro, aumenta los porcentajes de gestación (Larson et al., 2007).

#### **5. 10. Administración de hCG y GnRH post-IA**

Aparte de la suplementación con P4 post-IA en vacas lecheras y de carne, la administración de hormonas hCG y la hormona GnRH post-IA también aumentan los porcentajes de gestación, por medio de aumentar el tamaño del CL, la formación de CLs y aumento de las concentraciones de P4, estos estudios han sido realizados principalmente en vacas en estrés térmico y estrés nutricional (Beltrán & Vasconcelos, 2008). El uso de hCG en vacas lecheras y de carne ha sido estudiado en su aplicación durante los días 5-7 post-IA observándose aumento en la secreción de P4 y reducción de pérdidas embrionarias. De igual forma, la hormona GnRH induce la formación de CLs y el aumento de tamaño del CL (Willard et al., 2003), sin embargo, se prefiere la hormona hCG por su efecto elevado de LH en el folículo, observándose aumento en los porcentajes de gestación (Santos et al., 2001). El mecanismo por el cual las hormonas hCG y GnRH inducen la ovulación de los folículos presentes es por medio de su efecto directo e indirecto LH (Diaz et al., 1998; Pursley et al., 1998). Maillo et al (2013), en vaquillas de carne administraron 3000 UI de hCG en diferentes días posteriores al estro y encontraron aumento del tamaño del CL y formación de CLs, de igual manera Nascimento et al (2013) en vacas lecheras administraron 2000-3300 UI de hCG post-IATF y encontraron aumento en los niveles de P4 y en los porcentajes de gestación, también Rizos et al (2012) en vaquillas de carne con la administración de 3000 UI de hCG posteriores al estro encontraron aumento de tamaño del CL el día 14 posteriores al estro y la formación de CLs, así mismo Stevenson et al (2007) en vacas lecheras administraron GnRH y hCG, encontrando aumento de tamaño del CL en las vacas tratadas con hCG. En resumen, se indica el efecto de la GnRH y hCG en diferentes estudios en vacas tratadas con hCG, aumentando el tamaño del CL y la formación de CLs, principalmente en vaquillas y vacas adultas (Dalhen et al., 2010; Funston et al., 2005).

## **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6. 1. Lugar del estudio**

El presente estudio fue realizado en el Centro de Investigación en Producción Agropecuaria de la Universidad Autónoma de Nuevo León, ubicado en la carretera Nacional Km 143, Linares, Nuevo León. Los meses en que se realizó el estudio fueron de Junio-Julio y Noviembre-Diciembre de 2016.

### **6. 2. Animales experimentales, mantenimiento y alimentación**

Se utilizaron 49 vacas de la raza Simmental (n=25) y Simbrah (n=24). Las vacas incluidas en el presente estudio presentaban una condición corporal de  $4.18 \pm 0.11$  (rango de 4 a 6) de acuerdo a lo descrito por Richards et al (1986). Asimismo, las vacas tenían en promedio  $93.8 \pm 47.9$  días abiertos, y un rango de número de partos de 1 a 9. El manejo reproductivo fue sin la evaluación previa de la actividad ovárica y el 57% de las vacas estaban lactando. Las vacas se mantuvieron en un sistema de producción semi-intensivo pastoreando en praderas de zacate Pretoria (*Dichanthium annulatum*) y Klein (*Panicum coloratum*), adicionalmente, se ofreció silo de sorgo durante el invierno. El acceso al agua y suplemento alimenticio (Tecnofos 4:40: Proteína cruda 40.6%, Fosforo 4.0% y Sodio 4.7%) fue ofrecido *ad libitum*.

### **6. 3. Sincronización del estro e inseminación artificial**

El protocolo para la sincronización del estro, fue por medio de la inserción por 8 días del CIDR (Controlle Internal Drug Release; Zoetis, México) de 1.9 g de progesterona natural. Al mismo tiempo de la inserción del CIDR se administraron 2.0 mg de benzoato de estradiol IM (Benzoato de estradiol 0.1%, Zoovet, México). El retiro del CIDR se acompañó del destete temporal de las crías y la administración de 250 mg de dinoprost trometamina IM (Prostaglandina F<sub>2</sub> $\alpha$ , Lutalyse, Zoetis, México). Después del retiro del CIDR (24 horas después), se inició la observación del estro por un período de 72 h. Una vez detectado el estro la IA fue entre 12 a 14 horas posteriores.

#### **6. 4. Ultrasonografía para medir y contar las estructuras ováricas**

Las medidas de las estructuras ováricas en las vacas del estudio fueron por medio de ultrasonografía transrectal (Ultrasonido ALOKA, Prosound 2, China) con un transductor rectal (ALOKA, transductor lineal de 7.5 MHz). La retracción del útero para observar los ovarios fue por medio de la retracción del ligamento ancho del útero, iniciando la ultrasonografía con el ovario derecho y después el ovario izquierdo. Una vez encontrados los ovarios, el transductor se posicionó en la parte dorsal del ovario y se deslizo de manera dorsal-ventral-lateral y dorsal-ventral-anterior-posterior. Las imágenes de las estructuras ováricas se almacenaron y se midieron posteriormente. Las imágenes fueron tomadas durante los días 6, 7 y 8 post-IA. El diámetro del CL y folículos se determinó por la medida del axis vertical y axis horizontal (axis vertical + axis horizontal /2), estas medidas del CL y folículos fueron ajustadas a medidas estándar de estudios realizados por Ledezma et al (2011) y Sales et al (2016). El diagnóstico de gestación fue 45 días post-IA por medio de ultrasonografía.

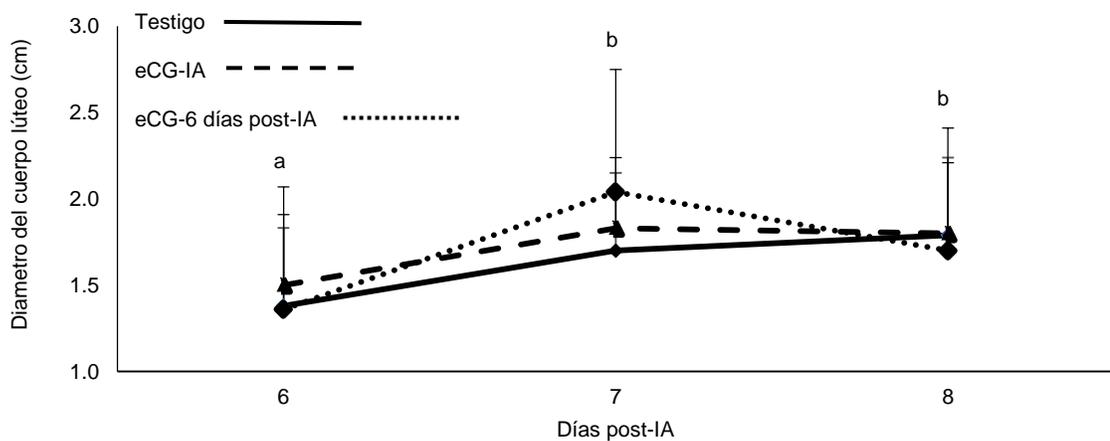
#### **6. 5. Diseño experimental y análisis estadístico**

Las vacas inseminadas fueron asignadas en forma aleatoria dentro de uno de los tres tratamientos; Tratamiento 1: Testigo, sin la aplicación de eCG, Tratamientos 2: administración de 400 UI de eCG al momento de la IA y Tratamientos 3: administración de 400 UI de eCG 6 días post-IA. Para evaluar el efecto entre tratamientos (T1, T2 y T3) y entre días (6, 7 y 8) post-IA de las variables: diámetro del CL y folículo dominante, cantidad: de CLs y cantidad de folículos dominantes, se utilizó un análisis de varianza (ANAVA). Para las variables independientes: condición corporal y días posparto se utilizó de la misma manera un ANAVA. La comparación de medias fue por medio del método de Tukey cuando se observaron diferencias estadísticas de  $P < 0.05$ .

## 7. RESULTADOS

### 7. 1. Diámetro del cuerpo lúteo

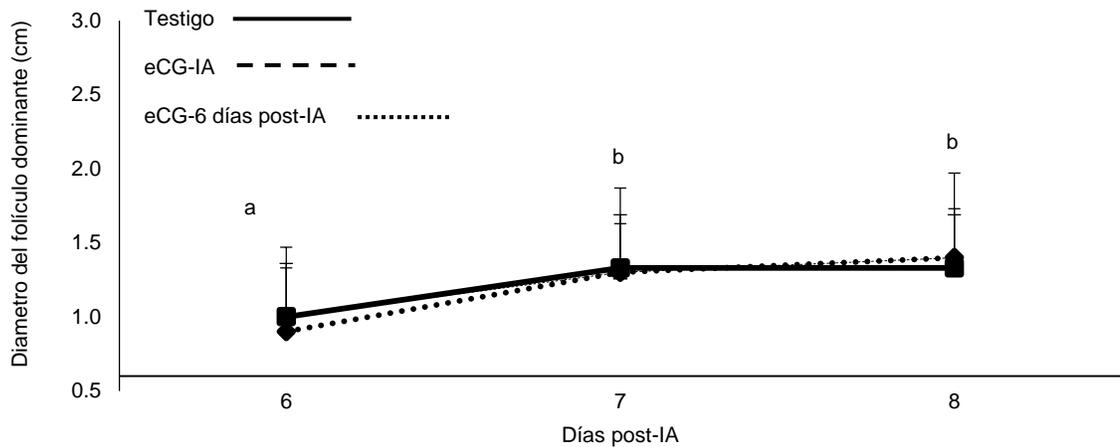
El diámetro del CL medido por medio de ultrasonografía en los días 6, 7 y 8 post-IA no fue diferente entre tratamientos (T1 testigo o sin eCG n=5, T2 400 UI de eCG al momento de la IA n=6 y T3 400 UI de eCG seis días post-IA n=2) ( $P > 0.05$ ). Mientras tanto, e independiente del tratamiento si se encontraron diferencias en el diámetro del CL en los días 6, 7 y 8 post-IA ( $P < 0.05$ ) (Ver gráfica 1).



**Grafica 1. Efecto de la administración de eCG sobre el diámetro (Media  $\pm$  E.E) del cuerpo lúteo de acuerdo con los tratamientos; T1: Testigo o sin eCG n=5, T2: 400 UI de eCG al momento de la IA n=6 y T3: 400 UI de eCG seis días post-IA n=2, durante los días 6, 7 y 8 post-IA, y diámetro del CL entre los días 6, 7 y 8 post-IA independientemente de los tratamientos.**

## 7. 2. Diámetro del folículo dominante

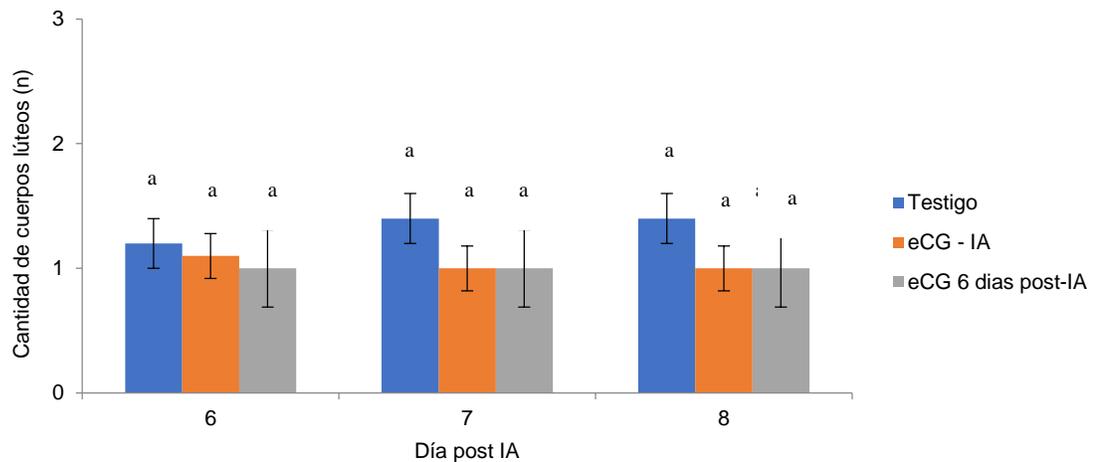
El diámetro del folículo dominante en los días 6, 7 y 8 post-IA no fue diferente ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos (T1 testigo o sin eCG  $n=5$ , T2 400 UI de eCG al momento de la IA  $n=6$  y T3 400 UI de eCG seis días post-IA  $n=2$ ), mientras tanto y de forma independiente del tratamiento si hubo diferencia ( $P < 0.05$ ) en el diámetro del folículo dominante durante los días 6 y 7, 6 y 8 post-IA (Ver gráfica 2).



**Grafica 2. Efecto de la administración de eCG sobre el diámetro del folículo dominante (Media  $\pm$  E.E) de acuerdo con los tratamientos; T1: Testigo o sin eCG  $n=5$ , T2: 400 UI de eCG al momento de la IA  $n=6$  y T3: 400 UI de eCG seis días post-IA  $n=2$ , en los días 6, 7 y 8 post-IA, y diámetro del folículo dominante entre los días 6, 7 y 8 post-IA independientemente de los tratamientos.**

### 7. 3. Cantidad de cuerpos lúteos

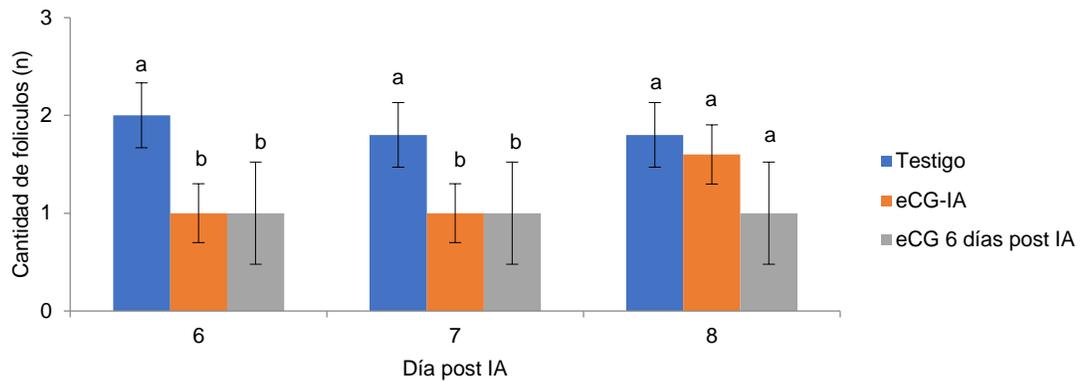
La cantidad de cuerpos lúteos observados por medio de ultrasonografía en los días 6, 7 y 8 post-IA no fueron diferentes ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos (T1 testigo o sin eCG, T2 400 UI de eCG al momento de la IA y T3 400 UI de eCG seis días post-IA), así mismo no hubo diferencia ( $P > 0.05$ ) en la cantidad de cuerpos lúteos entre los días 6, 7 y 8 post-IA (Ver gráfica 3).



**Grafica 3. Efecto de la administración de eCG sobre la cantidad de CLs (Media  $\pm$  E.E) de acuerdo con los tratamientos; T1: Testigo o sin eCG, T2: 400 UI de eCG al momento de la IA y T3: 400 UI de eCG seis días post-IA, en los días 6, 7 y 8 post-IA, y cantidad de CLs entre los días 6, 7 y 8 post-IA independientemente de los tratamientos.**

#### 7. 4. Cantidad de folículos dominantes

La cantidad de folículos dominantes observados por medio de ultrasonografía de acuerdo con los tratamientos T1 testigo o sin eCG, T2 400 UI de eCG al momento de la IA y T3 400 UI de eCG seis días post-IA fue diferente ( $P<0.05$ ) en el tratamiento T1 en los días 6 y 7 post-IA, sin embargo, el día 8 no se observó diferencia ( $P>0.05$ ) (Ver gráfica 4).



**Grafica 4. Efecto de la administración de eCG sobre la cantidad de FDs (Media  $\pm$  E.E) de acuerdo con los tratamientos; T1: Testigo o sin eCG, T2: 400 UI de eCG al momento de la IA y T3: 400 UI de eCG seis días post-IA en los días 6, 7 y 8 post-IA, y cantidad de FDs entre los días 6, 7 y 8 post-IA independientemente de los tratamientos.**

## 7. 5. Porcentajes de gestación

El porcentaje de gestación obtenido del total de las vacas incluidas en el experimento no fue diferente entre tratamientos ( $P>0.05$ ) (T1: testigo o sin eCG, T2: 400 UI de eCG al momento de la IA y T3: 400 UI de eCG seis días post-IA). El tratamiento tres fue 12.7% puntos más de preñez que el tratamiento uno, y el tratamiento tres fue 13.4% puntos más de preñez que el tratamiento dos (Ver tabla 1).

**Tabla 1. Se muestran el porcentaje de gestación de acuerdo con los tratamientos (T1: testigo o sin eCG (n=19), T2: 400 UI de eCG al momento de la IA (n=15), T3: 400 UI de eCG seis días post-IA (n=15) ( $P>0.05$ ).**

<b>Tratamientos</b>	<b>Total</b>	<b>Preñadas</b>	<b>No preñadas</b>	<b>Preñez (%)</b>
<b>Tratamiento 1</b> (sin eCG)	19	10/19	9/19	47.3
<b>Tratamiento 2</b> (400 UI eCG-IA)	15	8/15	7/15	46.6
<b>Tratamiento 3</b> (400 UI eCG seis días post-IA)	15	6/15	9/15	60.0

## 8. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos por medio de ultrasonografía en los días 6, 7 y 8 post-IA indican que la administración de 400 UI de la hormona eCG al momento de la IA y/o seis días post-IA no tiene efecto en el diámetro del cuerpo lúteo, diámetro del folículo dominante, la formación de CLs, ni en la cantidad de folículos en vacas de carne. Los diámetros del CL medidos por medio de ultrasonografía en los días 6, 7 y 8 post-IA con la administración de 400 UI de eCG al momento de la IA no fueron diferentes entre los tratamientos, estos resultados difieren a lo encontrado por Hirako et al (1995) donde ellos administraron 500 UI de eCG al tiempo de la ovulación, y observaron un aumento en el diámetro del CL, sin embargo, observaron una reducción en la duración del subsecuente ciclo estral. Por lo tanto, se puede mencionar que el efecto de la administración de eCG al momento de la IA es perjudicial para la vida del CL y la duración del ciclo estral. De igual manera al llevar a cabo la administración de 400 UI de eCG seis días post-IA, no se obtuvo efecto visible por medio de ultrasonografía en el diámetro del CL entre los tratamientos. Estos resultados son similares a los reportados por García Pintos & Menchaca (2016) y por Nuñez-Oliveira (2018) en donde los primeros administraron 400 UI de eCG 5 y 10 días post-IATF en ovejas, y no observaron aumento en el tamaño de CL después de la administración de eCG 5 días post-IATF, y si observaron efecto de eCG el día 10 post-IATF, así mismo los segundos administraron 400 UI de eCG 14 días post-IA en vacas de carne, donde observaron aumento del tamaño del CL. Estos resultados se atribuyen a que el día 10 después de la ovulación el CL ha adquirido su desarrollo y el administrar hormonas luteotropicas inducen crecimiento de células lúteas y secreción de P4 (Peter et al., 1994). Mientras tanto, en estudios con diferentes hormonas como la hCG y GnRH si se ha observado efecto en el diámetro del CL (Rizos et al 2012; Maillo et al 2013). Sin embargo, en el presente estudio no se observó diferencia significativa, mientras tanto, y de forma independiente de los tratamientos si se observaron diferencias de tamaño en el diámetro del CL en los días 6 y 7, 6 y 8 post-IA, resultados similares a lo reportado por Mann et al (2009). La administración de 400 UI de eCG al momento de la IA no tuvo efecto en la formación de CLs observados por medio de ultrasonografía entre los tratamientos ni

en los días 6, 7 y 8 post-IA, siendo similares a lo reportado por Hirako et al (1995), donde administraron 500 UI de eCG al tiempo de la ovulación, y no observaron formación de CLs. Asimismo, estudios donde se realizaron aplicaciones con hCG o GnRH al momento de la IA, no se observó formación de CLs, sin embargo, el efecto se observa en la secreción de P4 y los porcentajes de gestación (Geary et al., 2001; Gomez-Brunet et al., 2007). La razón por la cual la administración de eCG al momento de la IA no forma CLs se debe a que en ese momento está presente un folículo y los demás folículos están en atresia folicular (Sartori et al., 2001). La administración de eCG seis días post-IA no tuvo efecto en la formación de CLs observados por medio de ultrasonografía en los días 6, 7 y 8 post-IA, nuestros resultados fueron diferentes a lo mencionado por Rizos et al (2012) y Maillo et al (2013) donde ellos administraron 3000 UI de hCG en diferentes días después de la IA y observaron la formación de CLs en vacas de carne y lecheras, así mismo Nascimento et al (2013) observaron formación de CLs con la administración de las hormonas GnRH y hCG después de la IA. El efecto LH de la hormona eCG es menor al efecto inducido por las hormonas hCG y GnRH (Allen, 2001), por tal motivo, se puede hacer mención que la hormona eCG no forma CLs con su aplicación después de la IA. Después de la administración de 400 UI de eCG al momento de la IA y/o seis días post-IA solamente se observó diferencia en la cantidad de FDs en los días 6 y 7 post-IA en el tratamiento 1, nuestros resultados difieren a lo mencionado por Hirako et al (1995) en donde ellos administraron 500 UI de eCG el día de la ovulación y no reportaron efecto en la cantidad de folículos después de la IA. En protocolos para ovulación múltiple, la dosis y el día en que se administra la eCG es fundamental para inducir crecimiento folicular múltiple para IA en transferencia de embriones (Kanitz et al., 2002; González et al., 1994). Mientras tanto, las vacas son monoovulatorias y en ocasiones ovulan dos folículos, el cual puede ser la causa en el tratamiento 1 (Wiltbank et al 2014; Fricke et al 2002). La razón por la cual el día 8 post-IA no hubo diferencia en la cantidad folicular pudiera ser debido a que los folículos estaban en atresia folicular (Adams, 1992). En cuanto a los porcentajes de gestación no hubo diferencia en los diferentes tratamientos. Nuestros resultados son similares a estudios por García-Pintos & Menchaca (2016) en donde ellos no obtuvieron efecto de

la eCG post-IA en los porcentajes de gestación en ovejas. Mientras tanto, Bartolomé et al (2012) administraron eCG 22 días y hCG 29 días post-IA, encontraron aumento en los porcentajes de gestación en vacas con baja condición corporal. Por otra parte, la administración de GnRH y hCG al tiempo de la IA mejoran los porcentajes de gestación en vacas (Geary et al., 2011). En el presente estudio la administración de eCG al momento de la IA y/o seis días post-IA no tuvo efecto en los porcentajes de gestación en vacas de carne.

## **9. CONCLUSIÓN**

En las condiciones en que se realizó el presente trabajo se concluye que la administración de 400 UI de eCG al momento de la IA y/o seis días post-IA no tiene efecto en el diámetro del cuerpo lúteo, diámetro del folículo dominante, la formación de CLs, ni en la cantidad de folículos dominantes observados por medio de ultrasonografía. Sin embargo, el efecto de la eCG se ha observado en la función de las células foliculares y lúteas, lo cual abre la posibilidad para futuras investigaciones que aumenten la dosis de eCG y también que puedan medir los niveles de P4 y E2 con la administración de eCG al momento de la IA y/o seis días post-IA en vacas de carne.

## 10. LITERATURA CITADA

- Acosta TJ., Hayashi KG., Ohtani M., Miyamoto (2003). Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reproduction*, Vol.125: 759-767.
- Acosta TJ., Yoshizawa MO., Miyamoto A. (2002). Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin f2 (alpha) injection in the cow. *Biology of Reproduction*, 66, 651-658.
- Adams GP., Jaiswal R., Singh J., Malhi P. (2008). Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology. Animal Reproduction*, Vol. 69:72–80.
- Adams GP., Matteri RL., Kastelic JP., Ko JCH., Ginther OJ. (1992). Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*, Vol. 94: 177-188.
- Allen WR. (2001). Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. *Reproduction*, Vol. 121(4): 513-527.
- Barnwell CV., Farin PW., Whisnant C., Alexander J., Farin CE. (2015). Maternal serum progesterone concentration and early conceptus development of bovine embryos produce in vivo or in vitro. *Domestic Animal Endocrinology*, Vol. 52: 75-81.
- Bartolomé JA., Wallace SP., De la Sota RL., Thatcher WW. (2012). The effect of administering equine chorionic gonadotropin (eCG) and human chorionic gonadotropin (hCG) post artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology. Animal Reproduction* 78: 1110–1116.
- Beltran MP & Vasconcelos JLM. (2008). Conception rate in Holstein cows treated with GnRH or hCG on the fifth day post artificial insemination during summer. *Archivo Brasileiro de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, Vol. 60(3): 580-586.
- Berisha B & Schams D. (2005). Ovarian function in ruminants. *Domestic Animal Endocrinology* 29 (2): 305-17.

- Berisha B., Meyer HH., Schams D. (2010). Effect of prostaglandin F2 alpha on local luteotropic and angiogenic factors during induced functional luteolysis in the bovine corpus luteum. *Biology of Reproduction*, Vol. 82: 940–947.
- Berisha B., Steffl M., Amselgruber W., Schams D. (2006). Changes in fibroblast growth factor 2 and its receptors in bovine follicles before and after GnRH application and after ovulation. *Reproduction*, Vol. 131(2): 319-329.
- Bó GA., Baruselli PS., Mapletoft RJ. (2012). Increasing pregnancies following synchronization of bovine recipients. *Animal Reproduction*, Vol. 9: 312- 317.
- Boer HM., Stötzel C., Röblitz S., Deuflhard P., Veerkamp RF., Woelders H. (2011). A simple mathematical model of the bovine estrous cycle: follicle development and endocrine interactions. *Journal of Theoretical Biology*, Vol. 278(1): 20-31.
- Boeta M & Zarco L. (2012). Luteogenic and luteotropic effects during pregnancy in the mare. *Animal Reproduction Science*, 130:57-62.
- Carter F., Forde N., Duffy P., Wade M., Fair T., Crowe MA., Evans AC., Kenny DA., Roche JF., Lonergan P. (2008). Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reproduction, Fertility and Development*, Vol. 20: 368 –375.
- Clemente M., de La Fuente J., Fair T., Al Naib A., Gutierrez-Adan A., Roche JF., Rizos D., Lonergan P. (2009). Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? *Reproduction*, Vol. 138: 507–517.
- Colazo MG., Dourey A., Rajamahendran R., Ambrose DJ. (2013). Progesterone supplementation before timed AI increased ovulation synchrony and pregnancy per AI, and supplementation after timed AI reduced pregnancy losses in lactating dairy cows. *Theriogenology. Animal Reproduction*, Vol. 79(5): 833-841.

- Dahlen CR., Bird SL., Martel CA., Olson KC., Stevenson JS., Lamb GC. (2010). Administration of human chorionic gonadotropin 7 days after fixed-time artificial insemination of suckled beef cows. *Journal of the Animal Science*, Vol. 87: 2337-2345.
- Davis JS., Rueda BR., Spanel-Borowski K. (2003). Microvascular endothelial cells of the corpus luteum. *Reproductive Biology and Endocrinology*, Vol. 1(1): 89.
- Diaz T., Schmitt EJ., De la Sota RL., Thatcher MJ., Thatcher WW. (1998). Human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *Journal of Animal Science*, Vol. 76: 1929–1936.
- Diskin MG & Morris DG. (2008). Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reproduction in Domestic Animals*, Vol. 43 (Suppl. 2): 260–267.
- Espey LL. (1980). Ovulation as an inflammatory reaction—a hypothesis. *Biology of Reproduction*, Vol. 22: 73–106.
- FAO: Biotechnology options for improving livestock production in developing countries, with special reference to sub-Saharan Africa. (2016). Disponible en <http://www.fao.org/wairdocs/ilri/x5473b/x5473b05.htm>.
- FAO: Livestock production. (2016). Disponible en <http://www.fao.org/docrep/005/y4252e/y4252e07.htm>.
- Ferreira R., Oliveira JF., Fernandes R., Moraes JF., Goncalves PB. (2007). The role of angiotensin II in the early stages of bovine ovulation. *Reproduction* Vol. 134: 713–719.
- Forde N & Lonergan P. (2012). Transcriptomic analysis of the bovine endometrium: What is required to establish uterine receptivity to implantation in cattle? *Journal of Reproduction and Development*, Vol. 58: 189–195.
- Forde N., Beltman ME., Lonergan P., Diskin M., Roche JF., Crowe, MA. (2011). Oestrous cycles in *Bos Taurus* cattle. *Animal Reproduction Science*, Vol. 124: 163–169.
- Forde N., Carter F., Fair T., Crowe MA., Evans AC., Spencer TE., Bazer FW., McBride R., Boland MP., O’Gaora P. (2009). Progesterone-regulated changes in endometrial gene

expression contribute to advanced conceptus development in cattle. *Biology of Reproduction*, Vol. 81: 784-794.

Forde N., Carter TE., Spencer FW., Bazer O., Sandra N., Mansouri-Attia L. A., Okumu PA., McGettigan JP., Mehta R., McBride P., O’Gaora JF., Roche JF., Lonergan P (2011). Conceptus-Induced Changes in the Endometrial Transcriptome: How Soon Does the Cow Know She Is Pregnant? *Biology of Reproduction*, Vol. 85:144-156.

Fortune JE y Quirk SM. (1988). Regulation of steroidogenesis in bovine preovulatory follicles. *Journal of Animal Science*, Vol. 66 (Suppl. 2): 1–8.

Fortune JE. (1994). Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biology of Reproduction*, Vol. 50: 225-232.

Fricke PM (2002). Scanning the future-Ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *Journal of the dairy science*. Vol, 85: 1918-1926

Funston RN., Lipsey RJ., Geary TW., Roberts AJ. (2005). Effect of administration of human chorionic gonadotropin after artificial insemination on concentrations of progesterone and conception rates in beef heifers. *Journal of Animal Science*, Vol. 83: 1403–1405.

Galina C & Valencia J. (2008). *Reproducción de Animales Domesticos*. Mexico, Limusa, Pag 92-95.

García-Pintos C & Menchaca A. (2016). Luteal response and follicular dynamic induced with equine chorionic gonadotropin administration after insemination in sheep. *Small Ruminant Research*, 136: 202-207.

Garrett JE., Geisert RD., Zavy MT., Morgan GL. (1988). Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*, Vol. 84: 437–446.

Geary TW., Salverson RR., Whittier JC. (2001). Synchronization of ovulation using GnRH or hCG with the CO-Synch protocol in suckled beef cows. *Journal of Animal Science*, Vol. 79: 2536–2541.

- Gilbert I., Robert C., Dieleman S., Blondin P., Sirard MA. (2011). Transcriptional effect of the LH surge in bovine granulosa cells during the peri-ovulation period. *Biology of Reproduction*, Vol. 84: 369-378.
- Ginther OJ., Beg MA., Bergfelt DR., Donadeu FX., Kot K. (2001). Follicle selection in monovular species. *Biology of Reproduction*, Vol. 65:638–647.
- Ginther OJ., Bergfelt DR., Beg MA., Kot K. (2002). Role of low circulating FSH concentrations in controlling the interval to emergence of the subsequent follicular wave in cattle. *Reproduction*, Vol. 124: 475– 482.
- Gomez-Brunet A., Santiago Moreno J., Montoro V., Garde J., Pons P., Gonzalez BA., Opez SAL. (2007). Reproductive performance and progesterone secretion in estrus-induced Manchega ewes treated with hCG at the time of AI. *Small Ruminant Research*, Vol. 71: 117-122.
- Gonzalez A., Wang H., Carruthers TD., Murphy BD., Mapletoft RJ. (1994). Superovulation in the cow with pregnant mare serum gonadotrophin: effects of dose and antipregnant mare serum gonadotrophin serum. *The Canadian Veterinary Journal*, Vol. 35(3): 158-162.
- Guaqueta MH. (2009). Ciclo estral: Fisiología básica y estrategias para mejorar la detección de celos. Universidad Nacional de Colombia. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. Vol. 56:163-183.
- Gutierrez CG., Campbell BK., Webb R. (1997). Development of a long-term bovine granulosa cell culture system: induction and maintenance of estradiol production, response to follicle stimulating hormone and morphological characteristics. *Biology of Reproduction*, Vol. 56: 608–616.
- Hafez B & Hafez ESE. (2003). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. Mexico, DF, Pag: 60-64.
- Hansel W & Convey EM. (1983). Physiology of the estrous cycle. *Journal of Animal Science*, Vol. 57(suppl 2):404-424.

- Haughian JM., Ginther OJ., Diaz FJ., Wiltbank MC. (2013). Gonadotropin-releasing hormone, estradiol, and inhibin regulation of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone surges: implications for follicle emergence and selection in heifers. *Biology of reproduction*, Vol. 88(6), 165: 1-10.
- Hirako M., Kamomae H., Domeki I. (1995). Luteotropic effect of pregnant mare serum gonadotropin in cattle. *The Journal of Veterinary Medical Science*, Vol. 57:317-21.
- Hojo T., Al-Ziabi MO., Skarzynski DJ., Acosta TJ., Okuda K. (2009). Changes in the vasculature of bovine corpus luteum during the estrus cycle and prostaglandins induce luteolysis. *Journal of Reproduction and Development*, Vol. 55: 512-517.
- Inskeep EK. (2004). Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *Journal of Animal Science*, Vol. 82 (E. Suppl): E24-E39.
- Jaiswal RS., Singh J., Adams GP. (2004). Developmental pattern of small antral follicles in the bovine ovary. *Biology of Reproduction*, Vol. 71:1244–1251.
- Kaneko H., Nakanishi Y., Akagi S., Arai K., Taya K., Watanabe G., Sasamoto S., Hasegawa. (1995). Immunoneutralization of inhibin and estradiol during the follicular phase of the estrous cycle in cows. *Biology of Reproduction*, Vol. 53: 931-939.
- Kanitz W., Becker F., Schneider F., Kanitz E., Leiding C., Nohner HP., Pohland R. (2002). Superovulation in cattle: practical aspects of gonadotropin treatment and insemination. *Reproduction Nutrition Development*, Vol. 42: 587-599.
- Khoramian B., Farzaneh N., Garoussi MT., Mohri M. (2011). Comparison of the effects of gonadotropin releasing hormone, human chorionic gonadotropin or progesterone on pregnancy per artificial insemination in repeat-breeder dairy cows. *Research in Veterinary Science*, Vol. 90: 312-315.
- Lamb GC., Dahlen CR., Larson JE., Marquezini G., Stevenson JS. (2010). Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. *Journal of Animal Science*, Vol, 88 (Suppl)13: E181-192.

- Larson SF., Butler WR., Currie WB. (2007). Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, Vol. 102: 172–179.
- Ledezma R., Garza D., Moreno G., Manzanares N., Picon F., Ramírez, R., Sánchez F. (2015). Efecto del CIDR pos inseminación sobre la tasa de preñez en vacas de carne. *Ciencia, Universidad Autónoma de Nuevo León*. AÑO 18, No. 73.
- Ledezma RA., Camacho M., Picón F., Moreno G., Zárate J. (2011). Efecto del CIDR aplicado en vacas de carne receptoras para transferencia de embriones sobre la tasa de preñez. *Ciencia, Universidad Autónoma de Nuevo Leon*, Vol. 14 (3), 281-287.
- Lee J., McCracken JA., Banu SK., Rodriguez R., Nithy TK., Arosh JA. (2010). Transport of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  pulses from the uterus to the ovary at the time of luteolysis in ruminants is regulated by prostaglandin transporter-mediated mechanisms. *Endocrinology*, Vol.151:3326 –3335.
- Leung ST y Wathes DC. (2000). Oestradiol regulation of oxytocin expression in cyclic bovine endometrium. *Journal of Reproduction and Fertility*, Vol. 119: 287–292.
- Lonergan P., Hara LO., Forde N. (2013). Role of diestrus progesterone on endometrial function and conceptus development in cattle. *Animal Reproduction*, Vol. 10: 223–227.
- Looney CR., Nelson JS., Schneider HJ., Forrest DW. (2006). Improving fertility in beef cow recipients. *Theriogenology*. *Animal Reproduction*, Vol. 65(1): 201-209.
- Lucy MC. (2007). The bovine dominant follicle. *Journal of Animal Science*, Vol. 85 (E. Suppl.): E89–E99.
- Luo W., Gumen A., Haughian JM., Wiltbank MC. (2011). The role of luteinizing hormone in regulating gene expression during selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of reproduction*, Vol. 84 369-378.
- Maillo V., Duffy P., O’Hara L., de Frutos C., Kelly AK. (2013). Effect of hCG administration during corpus luteum establishment on subsequent corpus luteum development and

- circulating progesterone concentrations in beef heifers. *Reproduction, Fertility and Development*, Vol. 26(3): 367-374.
- Mann GE & Lamming GE. (2001). Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction. Society for Reproduction and fertility*, Vol. 121: 175–180.
- Mann GE. (2009). Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. *Animal Reproduction Science*. Vol 115 (1); 296-299.
- Martinuk SD., Manning AW., Black WD., Murphy BD. (1991). Effects of carbohydrates on the pharmacokinetics and biological activity of equine chorionic gonadotropin in vivo. *Biology of Reproduction*, Vol. 45(4): 598-604.
- Meidan R., Girsh E., Blum O., Aberdam E. (1990). In vitro differentiation of bovine theca and granulosa cells into small and large luteal-like cells: morphological and functional characteristics. *Biology of Reproduction* Vol. 43: 913–921.
- Mesquita FS., Pugliesi G., Scolari SC., Franc MR., Ramos RS., Oliveira M., Papa PC., Bressan FF., Meirelles FV., Silva LA., Nogueira GP., Membrive CM. (2014). Manipulation of the periovulatory sex steroidal milieu affects endometrial but not luteal gene expression in early diestrus Nelore cows. *Theriogenology. Animal Reproduction*, Vol. 81:861–869.
- Milvae RA., Hinckley ST., Carlson JC. (1996). Luteotropic and luteolytic mechanisms in the bovine corpus luteum. *Theriogenology. Animal Reproduction*, Vol. 45(7): 1327-1349.
- Miyamoto A y Shirasuna K. (2009). Luteolysis in the cow: a novel concept of vasoactive molecules. *Animal Reproduction*, Vol. 6: 47–59.
- Monteiro PLJ., Ribeiro ES., Maciel RP., Dias ALG., Sole E., Lima FS., Bisinotto RS., Thatcher WW., Sartori R., Santos JE. (2014). Effects of supplemental progesterone after artificial insemination on expression of interferon-stimulated genes and fertility in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Vol. 97: 1-15.
- Montes-Quiroz GL., Sánchez-Dávila F., Grizelj J., Bernal-Barragán H., Vazquez-Armijo JF., Del Bosque-González AS., Luna-Palomera C., González Gómez A., Ledezma-Torres

- RA. (2017). The reinsertion of controlled internal drug release devices in goats does not increase the pregnancy rate after short oestrus synchronization protocol at the beginning of the breeding season. *Journal of Applied Animal Research*, Vol. 46:1, 714-719.
- Murphy BD & Martinuk SD. (1991). Equine chorionic gonadotropin. *Endocrine Reviews*, Vol. 12(1): 27-44.
- Murphy BD. (2000). Models of Luteinization. *Biology of Reproduction*, Vol. 63: 2-11.
- Murphy BD. (2012). Equine chorionic gonadotropin: an enigmatic but essential tool. *Animal Reproduction*, Vol. 9: 223-230.
- Nascimento AB., Bender RW., Souza AH., Ayres H., Araujo RR., Guenther JN., Sartori R., Wiltbank MC. (2013). Effect of treatment with human chorionic gonadotropin on day 5 after timed artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Vol. 96: 2873–2882.
- Niswender GD. (2002). Molecular control of luteal secretion of progesterone. *Reproduction. Society for Reproduction and Fertility*, Vol. 123: 333–339.
- Niswender GD., Juengel JL., Silva PJ., Rollyson MK., McIntush EW. (2000). Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiological Reviews*, Vol. 80: 1-29.
- Núñez-Olivera R., de Castro T., Bó GA., Piaggio J., Menchaca A. (2018). Equine chorionic gonadotropin administration after insemination affects luteal function and pregnancy establishment in postpartum anestrous beef cows. *Domestic Animal Endocrinology*, Vol. 62: 24-31.
- O'Hara L., Forde N., Carter F., Rizos D., Maillo V., Ealy AD. (2014). Paradoxical effect of supplementary progesterone between Day 3 and Day 7 on corpus luteum function and conceptus development in cattle. *Reproduction, Fertility and Development* Vol. 26: 328–336.
- Okumu LA., Forde N., Fahey AG., Fitzpatrick E., Roche JF., Crowe MA., Lonergan P. (2010). The effect of elevated progesterone and pregnancy status on mRNA expression and

localization of progesterone and estrogens receptors in the bovine uterus. *Reproduction*, Vol. 140: 143–153.

Pate JL., Johnson-Larson CJ., Ottobre JS. (2012). Life or death decisions in the corpus luteum. *Reproduction in Domestic Animals*. Vol: 47(suppl 4): 297–303.

Pessoa GA., Martini AP., Carloto GW., Rodrigues MC., Claro Júnior I., Baruselli PS., Bauner CC., Rubin MI., Correa MN., Leivas FG., Sá Filho M F. (2016). Different doses of equine chorionic gonadotropin on ovarian follicular growth and pregnancy rate of suckled *Bos Taurus* beef cows subjected to artificial insemination protocol. *Theriogenology. Animal Reproduction*, 85: 792-799.

Peters KE., Bergfeld EG., Cupp AS., Kojima FN., Mariscal V., Sanchez T., Wehrman ME., Grotjan HE., Hamernik DL., Kittok RJ., Kinder JE. (1994). Luteinizing hormone has a role in development of fully functional corpora lutea CL but is not required to maintain CL function in heifers. *Biology of Reproduction*, Vol. 51: 1248–1254.

Pursley JR., Silcox RW., Wiltbank MC. (1998). Effect of time of artificial insemination of pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Vol. 81:2139–2144.

Quirk SM & Fortune JE. (1986). Plasma concentrations of gonadotrophins, preovulatory follicular development and luteal function associated with bovine follicular fluid-induced delay of oestrus in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*. Vol. 76, 609-621.

Redmer DA & Reynolds LP. (1996). Angiogenesis in the ovary. *Reviews of Reproduction*, Vol. 1(3): 182-192.

Rekawiecki R., Kowalik MK., Slonina D., Kotwica J. (2008). Regulation of progesterone synthesis and action in bovine corpus luteum. *Journal of Physiology and Pharmacology*, Vol. 59(suppl 9): 75-89.

- Richard MW., Spitzer JC., Warner MB. (1986). Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. *Journal of Animal Science*, Vol. 62: 300-306.
- Rizos D., Scully S., Kelly AK., Ealy AD., Moros R., Duffy P., Al Naib A., Forde N., Lonergan P. (2012). Effects of human chorionic gonadotrophin administration on Day 5 after oestrus on corpus luteum characteristics, circulating progesterone and conceptus elongation in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, Vol. 24: 472–481.
- Robinson RS. (2005). The induction of a delayed post-ovulatory progesterone rises in dairy cows: a novel model. *Domestic Animal Endocrinology*, Vol. 28, Issue 3, 285 – 295.
- Roche JF. (1996). Control and regulation of folliculogenesis a symposium in perspective. *Reviews of Reproduction*, Vol.1: 19–27.
- Sá Filho MF., Ayres H., Ferreira RM., Marques MO., Reis EL., Silva RCP., Rodrigues CA., Madureira E H., Bo GA., Baruselli PS. (2010). Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. *Theriogenology. Animal Reproduction*, Vol. 73: 651–658.
- Sales JN., Crepaldi GA., Girotto RW., Souza AH., Baruselli PS. (2011). Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. *Animal Reproduction Science*, Vol. 124: 12–8.
- Santos JE., Thatcher WW., Chebel RC., Cerri RL., Galvao KN. (2004). The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal Reproduction Science*, Vol. 82–83:513–535.
- Santos JE., Thatcher WW., Pool L., Overton MW. (2001). Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. *Journal of Animal Science*, Vol. 79: 2881-2894.

- Sartori R., Fricke PM., Ferreira JC., Ginther OJ., Wiltbank MC. (2001). Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biology of Reproduction*, Vol. 65:1403–1409.
- Sartori R., Haughian JM., Shaver RD., Rosa GJ., Wiltbank MC. (2004). Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *Journal of Dairy Science*, Vol. 87: 905–920.
- Sawalha MN., Kridli RT., Jawasreh KI., Meza-Herrera CA. (2011). The use of melatonin and progestagen–eCG to initiate reproductive activity in prepuberal Awassi ewe lambs. *Tropical Animal Health and Production*, Vol. 43(7): 1345-1350.
- Small JA., Colazo MG., Kastelic JP., Mapletoft RJ. (2009). Effects of progesterone presynchronization and eCG on pregnancy rates to GnRH-based, timed-AI in beef cattle. *Theriogenology. Animal Reproduction*, Vol. 71(4): 698-706.
- Stevenson JS., Portaluppi MA., Tenhouse DE., Lloyd A., Eborn DR., Kacuba S., De Jarnette JM. (2007). Interventions after artificial insemination: Conception rates, pregnancy survival, and ovarian response to gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone. *Journal of Dairy Science*, Vol. 90: 331–340.
- Stocco C., Telleria C., Gibori G. (2007). The molecular control of corpus luteum formation, function, and regression. *Endocrine Reviews*, Vol. 28: 117–149.
- Stormshak F. (2003). Biochemical and endocrine aspects of oxytocin production by the mammalian corpus luteum. *Reproductive Biology and Endocrinology*, Vol. 1: 92.
- Stumpf TT., Day ML., Wolfe MW., Clutter AC., Stotts JA., Wolfe PL., Kittok RJ., Kinder JE. (1989). Effect of estradiol on secretion of luteinizing hormone during the follicular phase of the bovine estrous cycle. *Biology of Reproduction*, Vol. 41:91
- Sunderland SJ. Crowe MA., Boland MP. Roche J F., Ireland JJ. (1994). Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*, Vol. 101: 547–555.

- Tomac J., Cekinovic D., Arapovic J. (2011). Biology of the corpus luteum. *Periodicum Biologorum*, Vol. 113: 43–49.
- Tortorella RD., Ferreira R., Dos Santos JT., De Andrade Neto OS., Barreta MH., Oliveira JF., Neves JP. (2013). The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. *Theriogenology. Animal Reproduction*, Vol. 79(8): 1204-1209.
- Willard S., Gandy S., Bowers S., Graves K., Elias A., Whisnant C. (2003). The effects of GnRH administration post-insemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. *Theriogenology. Animal Reproduction*, Vol. 59(8): 1799-1810.
- Wiltbank MC., Souza AH., Carvalho PD., Bender RW., Nascimento AB. (2012). Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in dairy cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, Vol. 24: 238–243.
- Wiltbank MC., Souza AH., Carvalho PD., Cunha AP., Giordano JO., Fricke PM., Baez GM., Diskin MG (2014). Physiological and practical effect of progesterone on reproduction in dairy cattle. *The animal consortium. Animal*, 8:1, pp 70-81.
- Wiltbank MC., Souza AH., Carvalho PD., Cunha AP., Giordano JO., Fricke PM., Baez GM., Diskin MG. (2014). Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal*, Vol. 8: 70–81.
- Woad KJ y Robinson RS. (2016). Luteal angiogenesis and its control. *Theriogenology. Animal Reproduction*, Vol. 86: 221-228.
- Wright MF., Sayre B., Keith IEK., Flores JA. (2001). Prostaglandin F(2alpha) regulation of the bovine corpus luteum endothelin system during the early and midluteal phase. *Biology of Reproduction*, Vol. 65: 1710–1717.