



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EFFECTO DEL CIDR APLICADO EN VACAS DE CARNE RECEPTORAS PARA
TRANSFERENCIA DE EMBRIONES SOBRE LA TASA DE PREÑEZ**

TESIS QUE PRESENTA

MVZ. MIGUEL ÁNGEL CAMACHO ARANDA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS

ESCOBEDO, NL., MÉXICO

SEPTIEMBRE 2009



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTO DEL CIDR APLICADO EN VACAS DE CARNE RECEPTORAS PARA
TRANSFERENCIA DE EMBRIONES SOBRE LA TASA DE PREÑEZ

Aprobación de tesis por el comité particular del
MVZ. Miguel Ángel Camacho Aranda

Dr. Rogelio Alejandro Ledezma Torres
Director de Tesis

Dr. Francisco Javier Picón Rubio

Co-director

Dr. Gustavo Moreno Degollado

Co-director

Dr. Guillermo Dávalos Aranda

Co-director

Dr. Gustavo Hernández Vidal

Co-director

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida y permitirme llegar a este momento importante en mi vida.

A mis papás Soledad y Miguel por todo su amor, apoyo y por sus invaluable consejos que me hace la persona que soy.

A mis hermanas Melanie y Yuliana; a toda mi familia por su apoyo durante el desarrollo de este trabajo.

Al MVZ. Denisse Garza Hernández, por toda su ayuda, su comprensión, sus consejos, pero más que nada por estar conmigo en esta etapa de mi vida.

A mi asesor Dr. Rogelio Ledezma por confiar y creer en mí, por aceptarme en su equipo de trabajo y sobre todo por brindarme su amistad.

Al Dr. Guillermo Dávalos Aranda y al Dr. Gustavo Hernández Vidal, por darme todo el apoyo necesario para poder realizar esta maestría.

A mi co-asesor el Dr. Gustavo Moreno por permitirnos realizar el trabajo de campo en el CPA y por estar siempre disponible a ayudarnos.

Al Dr. Nelson Manzanares por todo su apoyo en la realización del trabajo de campo, por su tiempo y dedicación para la elaboración de esta investigación.

A mi co-asesor el Dr. Francisco Picón Rubio por su cooperación en la parte estadística de este trabajo

A los Drs. Jaime Escareño Y Luis Edgar, por todos sus consejos durante la carrera y esta maestría.

A todos mis amigos: Claudia, Valeria, Vero, Aime, Toño, Raúl, Valentino, Deya, Cinthia y Marianne por sus criticas, consejos y ayuda desde el inicio de este trabajo, pero más que nada por ser más que mis amigos, por ser mis hermanos.

A todo el personal del CPA: Lily, Omar, Cristina, Rossy, Ing. Sergio Estrada, Carlos y Araceli, a los guardias, a los de soldadura, maquinaria y carpintería por toda su cooperación y apoyo, durante estos años.

A los todos vaqueros del CPA, especialmente: José, Don Lupito, Oscar, Carrillo, Jorge, Beto, Julio y Felipe por todas sus enseñanzas y consejos y por brindarnos su amistad, durante la realización de este trabajo.

A Roció, Yola y Silvia por siempre estar dispuestas a ayudarnos en todo.

DEDICATORIA

A Dios por ayudarme y guiarme por este camino.

A mis papás, por ser mis dos grandes pilares de apoyo. Los quiero.

A Santi y a todos mis demás sobrinos, por ser el regalo máspreciado y la luz de mi vida.

A ti Denisse, por ser mi compañera, mi amiga y mi alma gemela. Te amo.

ABREVIATURAS

b- IFN- τ	Interferón-tau bovino
BCS	Body Condition Score
CC	Condición corporal
CIDR	Controlled Internal Drug Release
CL	Cuerpo lúteo
cm	Centímetros
Dx	Diagnóstico
eCG	Gonadotropina coriónica equina
FSH	Hormona folículo estimulante
GH	Hormona del crecimiento
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
hCG	Gonadotropina coriónica humana
IA	Inseminación Artificial
IFN- τ	Interferón-tau
Km	Kilómetro
LH	Hormona luteinizante
LP	Lactógeno placentario
Mg	Miligramos
MHz	Megahertz
ml	Mililitros
Ng	Nanogramos
PAG	Glucoproteína asociada a la preñez
PGF _{2-α}	Prostaglandina F2- alfa
PMSG	Pregnant Mare Serum Gonadotropin
PRID	Progesterone-releasing intravaginal device
PRL	Prolactina
PSP-60	Suero proteico 60
Tam	Tamaulipas
TE	Transferencia embrionaria
UI	Unidades Internacionales

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Tasa de preñez de las vacas receptoras de acuerdo al tratamiento.....	26
2. Número de animales gestantes y no gestantes de acuerdo a los tratamientos.....	27
3. Tabla de contingencia del diagnóstico de preñez en relación con el tratamiento asignado a cada grupo.....	27
4. Cantidad, tipo de embrión transferido y preñez en cada grupo tratamiento.....	28
5. Tabla de contingencia del diagnóstico de preñez en relación con el tipo de embrión transferido.....	29
6. Medias de los diámetros (cm) de los cuerpos lúteos de acuerdo al tratamiento (7 o 14 días con CIDR) inmediatamente antes de la transferencia.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Protocolo de sincronización de estros y transferencia embrionaria en vacas receptoras.....	22
2. Protocolo de sincronización de estros, superovulación y recolección de embriones en vacas donadoras.....	23
3. Aplicación del CIDR inmediatamente después de la transferencia embrionaria y retiro a los 7 días (Grupo 1) o 14 días después de la transferencia embrionaria.....	24
4. Porcentajes de preñez obtenidos de acuerdo al tratamiento.	26
5. Porcentaje de preñez global y entre grupos (Grupo 1= CIDR por 7 días y Grupo 2= CIDR por 14 días) obtenidos durante el estudio al transferir un embrión fresco o un embrión congelado-descongelado.....	29

ÍNDICE

Contenido	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivo.....	2
1.2. Hipótesis.....	2
1.3. Justificación.....	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Factores asociados con el embrión.....	3
2.2. Factores asociados con la técnica de transferencia embrionaria (TE).....	4
2.3. Factores asociados con la vaca receptora.....	4
2.3.1. Manejo-Nutrición.....	5
2.3.2. Control del ciclo estral.....	6
2.4. Cuerpo lúteo y concentración de progesterona.....	6
2.5. Efecto embriotóxico/luteolítico de PGF2-alfa.....	9
2.6. Efecto embriotóxico del estradiol 17-beta.....	9
2.7. Reconocimiento materno.....	10
2.7.1. Citocinas.....	11
2.7.2. Hormonas y/o proteínas que produce la placenta/feto.....	12
2.7.2.1. Glucoproteínas asociadas a la preñez.....	12
2.7.2.2. Lactógeno placentario (LP).....	13
2.8. Incremento de la tasa de supervivencia embrionaria.....	14
2.8.1. Flunixin de meglumine.....	14
2.8.2. Gonadotropina coriónica equina (eCG).....	15
2.8.3. Progesterona.....	16
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
3.1. Lugar de estudio.....	20
3.2. Animales experimentales y mantenimiento.....	20
3.3. Sincronización y detección del estro de animales receptores.....	21
3.4 Sincronización del estro y superovulación de los	

animales donadores.....	21
3.5. Obtención y transferencia embrionaria.....	22
3.6. Lavado y desinfección del CIDR (Controlled Internal Drug Release).....	23
3.7. Aplicación del CIDR inmediatamente después de la transferencia embrionaria.....	23
3.8. Medición de los cuerpo lúteos y diagnóstico de preñez..	24
3.9. Diseño estadístico.....	24
4. RESULTADOS.....	26
4.1. Efecto de los tratamientos.....	26
4.2. Efecto del tipo de embrión transferido (fresco o congelado-descongelado).....	28
4.3. Efecto del tamaño del cuerpo lúteo inmediatamente antes de la transferencia embrionaria.....	30
5. DISCUSIÓN.....	31
6. CONCLUSIÓN.....	33
7. RESUMEN.....	34
8. LITERATURA CITADA.....	35
9. ANEXOS.....	51

1. INTRODUCCIÓN

La técnica de transferencia embrionaria (TE) fue establecida alrededor de los años 1970's. Inicialmente, las técnicas de transferencia embrionaria eran exclusivamente quirúrgicas. Sin embargo, hacia los años de 1980's, la mayoría de los embriones eran transferidos mediante la técnica no-quirúrgica (Jones and Lamb, 2008).

El costo económico de un programa de TE se le atribuye principalmente al mantenimiento y cuidado de las vacas receptoras. Con cada transferencia no exitosa, los costos de alimentación, de sincronización de estros y los costos de la TE se incrementan.

Para que un programa de transferencia sea efectivo, se deben tomar en cuenta numerosos factores, entre los cuales, los principales factores responsables del resultado de un transferencia embrionaria son la nutrición, el control del ciclo estral y el manejo de la vaca receptora (Jones and Lamb, 2008).

La nutrición, los intervalos post-parto y la sincronía de las vacas donadoras con las vacas receptoras, son elementos importantes para el éxito de la TE. Estudios recientes han desarrollado protocolos de sincronización de estros que permiten una mejor sincronía entre los animales (Tribulo et al., 2000; Bò et al., 2001). Estos protocolos comprenden el uso de la suplementación con progestágenos en conjunto con estradiol y prostaglandinas. En diversos estudios se han evaluado los efectos de la suplementación de las receptoras con agentes farmacéuticos, hormonas o aditivos nutricionales, de entre los cuales se pueden incluir la progesterona, gonadotropina coriónica equina (eCG) y flunixin de meglumine (Looney et al., 2006).

En muchas maneras, el manejo de la vaca receptora es un tanto más crítico que el manejo de la vaca donadora, debido a que el animal receptor debe establecer y mantener una preñez, parir y criar al becerro(a) de alta calidad genética.

1.1. Objetivo

Usar el CIDR como coadyuvante del cuerpo lúteo aplicado inmediatamente después de la transferencia de embriones y mantenido intravaginalmente durante 7 o 14 días en vacas receptoras.

1.2. Hipótesis

Mediante la aplicación del CIDR inmediatamente después de la transferencia embrionaria en las receptoras se podrá aumentar la tasa de preñez.

1.3. Justificación

La transferencia de embriones es una técnica de reproducción asistida útil para mejorar la genética de un hato. Desde este punto de vista, el uso del CIDR podría incrementar la efectividad de ésta técnica, para incrementar los índices de gestación y parición.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

El principal objetivo de la transferencia embrionaria (TE) es aumentar o amplificar las tasas reproductivas de animales de alta calidad genética. La TE es especialmente útil en ganado bovino, debido a la baja tasa de reproductividad en estos animales (Seidel, 1991). Existen diversos factores que determinan el resultado exitoso de una transferencia embrionaria, entre los cuales se incluyen los factores asociados con el embrión, con la técnica de transferencia, con la vaca receptora, y además, una interacción entre los factores ya mencionados.

El uso (condición) de una vaca receptora depende de diferentes factores, en los cuales se incluye el manejo, la nutrición y el control del ciclo estral para asegurar la presencia de un cuerpo lúteo funcional al momento de la transferencia embrionaria (Jones and Lamb, 2008).

La mortalidad embrionaria es el principal factor que limita el establecimiento y el mantenimiento exitoso de la preñez. Existen diversos factores que se le pueden atribuir a la muerte embrionaria, sin embargo, el factor dependiente de la supervivencia o muerte embrionaria es la concentración de progesterona en periodos específicos de la gestación.

2.1. Factores asociados con el embrión

El estado de desarrollo del embrión, al igual que su calidad, tiene una alta influencia sobre el resultado de la transferencia embrionaria. Schneider et al. (1980), reportó una baja tasa de preñez al transferir embriones en etapa de mórula temprana. En otros estudios, se ha demostrado que los embriones calificados como excelentes o buenos resultan en una mayor tasa de preñez, que aquellos calificados de menor calidad (Schneider et al., 1980; Hasler, 2001). Diversos autores han demostrado que no existe una diferencia sobre las tasas de preñez al transferir embriones en etapa de mórula tardía y/o etapa de blastocisto tardío al usar embriones frescos (Schneider et al., 1980; Hasler, 2001). Hasler (2001), obtuvieron resultados similares transfiriendo embriones congelados-descongelados. Sin embargo, estudios realizados al transferir embriones frescos

producen tasas de preñez más altas, que las transferencias usando embriones congelados-descongelados (Hasler, 2001).

2.2. Factores asociados con la técnica de transferencia embrionaria (TE)

La técnica de TE implica remover el embrión de su ambiente uterino normal, y en la mayoría de los casos, si se requiere, el congelamiento y posterior descongelamiento de dichos embriones. Estos manejos causan daños celulares irreversibles en el embrión, lo cual disminuye la tasa de sobrevivencia al momento de la transferencia (Jones and Lamb, 2008). Es de suma importancia que la persona a realizar la transferencia tenga experiencia, porque no solo determina el sitio de deposición del embrión, sino también el trauma al útero al momento de transferir el embrión (Sreenan and Diskin, 1987). Durante la TE no-quirúrgica, el útero debe de ser palpado vía rectal para depositar el embrión en el cuerno uterino ipsilateral al cuerpo lúteo. La manipulación del útero puede causar la secreción de PGF2-alfa del endometrio uterino (Ferguson, 1941; Wann and Randel, 1990), la cual puede tener un efecto directo sobre la sobrevivencia del embrión y su desarrollo (Schrick et al., 2003). En un estudio realizado por Seals et al. (1998), reportaron que una inyección de PGF2-alfa 5 a 8 días después de la Inseminación artificial (IA) incrementaba la mortalidad embrionaria. Otro de los factores importantes, es la habilidad de determinar la presencia de un cuerpo lúteo (CL) funcional al momento de la transferencia. Spell et al. (2001), reportaron que la tasa de preñez no disminuía al usar vacas receptoras que tenían un cuerpo lúteo con fluido en su interior. Un CL de un diámetro de 10 mm es un tamaño aceptable y optimo. No se han observado diferencias en la tasa de preñez a medida que el tamaño del CL se incrementa. Diversos estudios han indicado que no existe correlación alguna entre el tamaño del CL y la tasa de preñez (Bó et al., 2001; Hasler et al., 1987; Remsen and Roussel, 1982; Coleman et al., 1987).

2.3. Factores asociados con la vaca receptora

El manejo de la vaca receptora es un tanto más crítico para el resultado exitoso de la TE que el de la vaca donadora, debido a que la vaca receptora debe de establecer una preñez, mantenerla hasta el parto, parir y criar al becerro de alta

calidad genética. El manejo-nutrición y el control del ciclo estral, son los principales factores que se tiene que tomar en cuenta para asegurar la presencia de un cuerpo lúteo funcional al momento de la transferencia embrionaria (Jones and Lamb, 2008).

2.3.1. Manejo-Nutrición

El manejo posparto y la nutrición son dos de los factores que tienen fuerte influencia sobre el resultado de la TE. Las vacas incluidas en un programa de sincronización deben de tener un intervalo post-parto de por lo menos 50 días, y las vaquillas deben de tener un intervalo mayor de 50 días después del destete para poder ser sincronizadas. Los intervalos post-parto, son influenciados por diversos factores en vacas de carne. Los animales que no experimentan problemas al parto, y que además, son mantenidos en un estado nutricional adecuado estarán ciclando alrededor de los 50 días postparto (Looney et al., 2006; Short et al., 1990). La nutrición juega un papel importante en todos los aspectos de la reproducción, y es especialmente crítica para las vacas receptoras (Looney et al., 2006). Un consumo insuficiente de energía, proteínas, vitaminas y micro- y macro-minerales ha sido asociado a un pobre desempeño reproductivo. De todos estos nutrientes, el balance energético es probablemente el factor nutricional altamente relacionado al desempeño reproductivo en bovinos (Jones and Lamb, 2008). Mapletoft et al. (1986), reportaron que la tasa de preñez se ve influenciada por la condición corporal, independientemente del tipo de embrión usado (fresco o congelado). La evaluación de la condición corporal (CC) (BCS, Body Condition Score), es un método confiable para valorar el estado nutricional de las vacas receptoras. Mapletoft et al. (1986), reportaron que las tasas de preñez eran significativamente más altas en animales que tenían una CC de 3 y 2 (escala de 1-5; 1=vaca que presenta emaciación y 5 vaca obesa) en comparación con aquellas que tenían una CC de 1 o menor. Lowman (1985), reportó que una CC de 2.5 al momento del destete y de por lo menos 2 al momento de la TE sería lo óptimo para el resultado exitoso de la TE.

2.3.2. Control del ciclo estral

El uso (condición) de una vaca receptora, es determinado por el tiempo de expresión del estro y por la presencia del cuerpo lúteo funcional. Diversos autores mencionan que las tasas de preñez varían de acuerdo a la sincronía entre la vaca donadora y la receptora. Spell et al. (2001), demostraron que las tasas de preñez tienden a ser mayores cuando las vacas receptoras coinciden en estro con las vacas donadoras, o bien 12 a 24 h antes. Otros estudios demuestran que las tasas de preñez disminuyen cuando las vacas receptoras están en estro 12 h después que la vaca donadora (Schneider et al., 1980; Hasler et al., 1987). La certeza y la exactitud para la detección visual del estro son de suma importancia para la sincronización de la vaca receptora con la etapa de desarrollo embrionario. La variabilidad en la cual las vacas receptoras inician la expresión del estro puede estar influenciada por la detección visual (Looney et al., 2006). Nuevos protocolos de sincronización de estros han incluido, tanto el control de la fase lútea como el crecimiento folicular, con lo cual se ha incrementado la precisión de la sincronía entre las vacas receptoras (Tribulo et al., 2000; Bó et al., 2002). Estos protocolos de sincronización consisten en la inserción de un dispositivo intravaginal de progesterona y la administración de benzoato de estradiol (2.5 mg) y progesterona (50 mg, i.m.) al día "0" (sincronización de oleada folicular), PGF2-alfa al momento del retiro del dispositivo intravaginal para asegurar la luteólisis (día 7-8), y 24 h después una aplicación de benzoato de estradiol para sincronizar la ovulación (Bó et al., 2002). Este método permite tener una mejor sincronización entre las vacas receptoras, sin embargo, bajo la influencia del estradiol, puede ocasionar la ovulación de folículos inmaduros no aptos para la transferencia embrionaria.

2.4. Cuerpo lúteo y concentración de progesterona

El cuerpo lúteo (CL) se forma después de una ovulación, y es la fuente principal de progesterona. La morfología del CL y las concentraciones plasmáticas de progesterona son buenos indicadores de la síntesis de progesterona dentro del CL (Singh et al., 2003). La intensa angiogénesis, la proliferación de las células de la granulosa y de la teca de la pared del folículo luteinizado y su diferenciación

durante los primeros 5-6 días después de la ovulación, resulta en un incremento progresivo en las concentraciones plasmáticas de progesterona, que van de <1 ng/ml a los 3 días después de la ovulación a aproximadamente 3 ng/ml al día 6 (después de la ovulación). La concentración plasmática de progesterona alcanza un pico máximo entre los días 10 y 14 post-ovulación, seguida de una disminución alrededor del día 16 debido a la luteólisis inducida por la PGF₂-alfa secretada por el endometrio de la vaca no preñada (Adams et al., 2008).

Comúnmente se asume, que un cuerpo lúteo de gran tamaño será asociado con una alta concentración plasmática de progesterona. Diversos estudios se han realizado con el objetivo de estudiar la relación, sin embargo, los resultados han sido inconsistentes (Yung et al., 1996; Sartori et al., 2002). En otro estudio (Mann, 2008), demostró un incremento dramático del tamaño del cuerpo lúteo entre los días 5 al 8, mientras que a los días 8 al 16 no se mostró incremento alguno, indicando que para el día 8, el cuerpo lúteo está por alcanzar su estado físico de madurez, y para el día 16 este ha alcanzado la completa madurez. En cuanto a la concentración de progesterona, se mostró un incremento del día 5 al 8, al igual que del día 8 al 16. Esto indica que al día 5, se presentó una fuerte relación entre el tamaño del cuerpo lúteo y la concentración de progesterona, sin embargo, esta relación desapareció a los días 8 al 16.

La secreción lútea de progesterona es esencial para el establecimiento y el mantenimiento de la gestación, debido a que juega un papel importante en el desarrollo uterino, implantación, alimentación y la supervivencia del embrión/feto (Ulberg et al., 1951; McDonald et al., 1952; Spencer et al., 2004). Durante la fase lútea seguida inmediatamente después del estro, la progesterona regula el establecimiento y el tiempo de los mecanismos de regresión lútea (Garret et al., 1988a). Por los mismos mecanismos, la progesterona prepara al útero para el reconocimiento materno (Vincent and Inskeep, 1986; Vincent et al., 1986).

Diversos estudios han demostrado bajas concentraciones de progesterona en plasma en vacas que no llegaron al término de gestación. Algunos autores reportan una relación positiva entre las concentraciones de progesterona y la supervivencia embrionaria a los días 4, 5 y 6 del ciclo estral (Green et al., 2000;

McNeill et al., 2006), mientras que otros no encontraron relación alguna sino hasta los días 14 y 17 de gestación (Chagas and Lopes, 2005).

A pesar de la inconsistencia de estos estudios, existe una buena indicación de que las bajas concentraciones de progesterona durante la etapa lútea pos-ovulatoria temprana, o un retraso en la secreción normal de progesterona durante este periodo, están asociados con la disminución en la tasa de supervivencia embrionaria (Darwash and Lamming, 1998; Hommeida et al., 2004). Se ha demostrado que la suplementación de progesterona al día 5 incrementa la tasa de supervivencia embrionaria en vacas mostrando una baja concentración de progesterona en ese día, sugiriendo que la secreción de progesterona en la etapa post-ovulatoria puede ser un factor crítico sobre el crecimiento y desarrollo embrionario (Starbuck et al., 2001).

En diversos estudios se han evaluado los efectos de la suplementación de las vacas receptoras con agentes farmacéuticos, hormonas o aditivos nutricionales con el objetivo de incrementar la tasa de supervivencia embrionaria, de entre los cuales se pueden mencionar la progesterona, gonadotropina coriónica equina (eCG), gonadotropina coriónica humana (hCG), hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y flunixin de meglumine (Looney et al., 2006). El concepto de incrementar la concentración sanguínea de progesterona para incrementar la tasa de preñez ha sido reportado en diversos estudios (Macmillan and Peterson, 1993; Smith et al., 1996).

Los porcentajes más altos de pérdidas embrionarias en bovinos, se presentan entre los primeros 42 días de gestación (Inskeep, 2002). Inskeep (2004), menciona que la baja tasa de supervivencia embrionaria entre la quinta y la novena semana de gestación, está asociada a las bajas concentraciones de progesterona hacia la quinta semana de gestación. Maurer and Chenault (1983), reportaron que el 67% de las muertes embrionarias ocurren alrededor del día 8 de gestación.

Las concentraciones de progesterona han sido implicadas en la muerte embrionaria durante diferentes periodos, de entre los cuales se puede mencionar

el periodo post-ovulatorio temprano, durante los días 4 al 9 de gestación, durante el reconocimiento materno (día 14 al 17) y durante el periodo embrionario tardío (día 28 al 42). Estas bajas concentraciones de progesterona, conlleva a una excesiva concentración de otras hormonas las cuales causan la muerte embrionaria (Inskeep, 2004).

2.5. Efecto embriotóxico/luteolítico de PGF2-alfa

Las concentraciones de progesterona antes del estro alteran la morfología endometrial durante el ciclo estral subsecuente (Shaham-Albalancy et al., 1997). Debido a las bajas concentraciones de progesterona durante este periodo (2.1 a 2.3 ng/ml), se incrementa la secreción de PGF2-alfa en respuesta a la oxitocina (Shaham-Albalancy et al., 2001).

Cooper et al. (1991), mencionan que el tiempo aparente de la perdida embrionaria, alrededor de los días 5 al 8 de gestación, está altamente relacionado con el incremento de la secreción uterina de PGF2-alfa a los días 4 al 9 después del estro. Schallenberger et al. (1989), observaron un incremento en la concentración de progesterona hasta el día 6 después del estro.

El papel de las prostaglandinas sobre la implantación embrionaria no está muy bien aclarado en rumiantes. Sin embargo, un efecto embriotóxico de la PGF2-alfa ha sido demostrado en ratones (Harper and Skarnes, 1972), conejos (Maurer and Beier, 1976) y ratas (Breuel et al., 1993a).

La exposición in vitro de un embrión en etapa de mórula a la PGF-2alfa inhibe su desarrollo (Schrack et al., 2003). Seals et al. (1998), mencionan que los embriones expuestos in vivo a PGF-2alfa a los días 5-8 después de la inseminación artificial son menos probables sobrevivir para el termino de gestación.

2.6. Efecto embriotóxico del estradiol 17-beta

Los patrones del desarrollo folicular y la resultante secreción de estradiol-17 beta durante los días 14 al 17 de gestación, puede ser un factor importante relacionado

con la muerte embrionaria durante el reconocimiento materno. Este concepto fue originalmente descrito por Macmillan et al. (1986), y ha sido apoyado en diversos estudios por Thatcher et al. (1989). En estos estudios se demostró que la ovulación o la atresia del folículo más grande durante la fase lútea intermedia algunas veces se incrementaba la tasa de preñez.

Pritchard et al. (1994), mostraron evidencia de la asociación de la muerte embrionaria con la excesiva secreción de estrógenos durante el reconocimiento materno. En su estudio la tasa de concepción a primer servicio por inseminación artificial disminuía a medida que las concentraciones de estradiol incrementaban.

2.7. Reconocimiento materno

El crecimiento y desarrollo del embrión/feto, inequívocamente requiere de la acción de la progesterona y de hormonas originadas de la placenta/embrión sobre el útero para regular la función y diferenciación del endometrio, para las señales del reconocimiento materno, implantación y la interacción entre el embrión/feto y el útero. Las hormonas derivadas del embrión/feto actúan en el útero de una manera paracrina para establecer y mantener la gestación. El establecimiento de la preñez involucra el reconocimiento materno y la implantación del embrión. El reconocimiento materno se puede definir como un proceso fisiológico donde el embrión/feto envía señales hacia el sistema materno (Spencer et al., 2004).

El periodo de pre-implantación “compromete” específicas interacciones feto-maternales, las cuales conllevan al reconocimiento materno y por consiguiente al mantenimiento de la preñez. El embrión/feto en desarrollo sintetiza y secreta una gran cantidad de citocinas, hormonas, enzimas, prostaglandinas (Schäfer-Somi, 2003).

La placenta juega un papel importante en el desarrollo y crecimiento fetal, y es el órgano responsable de mediar/modular el ambiente materno necesario para desarrollo óptimo del embrión/feto (Anthony et al., 1995), debido a que durante la preñez, la placenta es el sitio de transferencia de nutrientes entre la madre y el embrión/feto. Actuando como un órgano autocrino, paracrino y endocrino, la

placenta sintetiza una gran cantidad de esteroides y péptidos hormonales, los cuales regulan el desarrollo de la unidad feto-placental (Gootwine, 2004).

2.7.1. Citocinas

Las citocinas participan en el mantenimiento del cuerpo lúteo, implantación, crecimiento y desarrollo fetal, y en diversos mecanismos inmunomoduladores. Nasu et al. (1999), mencionan que la presencia local de estas proteínas puede ser decisiva para la supervivencia embrionaria.

En rumiantes, el IFN- τ (interferón tau, una citocina), es esencial para el mantenimiento de la preñez en rumiantes, debido a que previene la acción luteolítica de la PGF₂-alfa (Capon et al., 1985; Bazer et al., 1986; Bazer, 1989; Bazer et al., 1989; Gnatek et al., 1989; Hommeida and Al-Afaleq, 1994; Spencer et al., 2007). El efecto anti-luteolítico del IFN- τ resulta de la inhibición de la expresión endometrial de los receptores de oxitocina (Demmers et al., 2001). La administración de oxitocina a los días 5 al 8 después de la inseminación artificial, reduce la índice de preñez de un 80 a un 33% (Leemaster et al., 1999). Mann and Lamming. (2001), demostraron que una baja concentración de progesterona entre los días 3 al 8 seguidos de la concepción está asociada con la presentación de embriones pequeños al día 16 de gestación, lo cual causara una producción insuficiente de IFN- τ . El IFN- τ , corresponde al IFN del trofoblasto tipo 1 o proteína del trofoblasto (Hauptmann and Swetly, 1985). Las células mononucleadas del trofoblasto en las etapas tempranas de desarrollo son las responsables de la producción y secreción de interferón-tau (Thatcher et al., 2001). El IFN- τ , es primeramente producido por el embrión al día 12 de gestación, y su concentración en el lumen uterino alcanza un pico a los días 15-17 de gestación (Schäfer-Somi, 2003). En todos los rumiantes, el IFN- τ es secretado por el trofoblasto antes de la implantación, entre los días 10 y 21- 24. En un estudio realizado, se detecto que el trofoblasto bovino expresa, entre los días 17 y 25 de gestación, un considerable número de genes de b- IFN- τ (Interferón tau bovino) (Ealy et al., 2001).

Además de la acción anti-luteolítica, en algunas especies los IFN's trofoblasticos promueven la inmunoregulación, esto para evitar que el sistema inmune materno

reaccione en contra del embrión. Se ha demostrado que el b- IFN- τ inhibe la proliferación de ciertas sub-poblaciones de linfocitos, y es sugerido que regula la liberación de citocinas de los linfocitos endometriales (Skopets et al., 1992).

2.7.2. Hormonas y/o proteínas que produce la placenta/feto

Las proteínas y/u hormonas originadas en la placenta, que han sido encontradas en sangre de la madre en diferentes estadios de la gestación de rumiantes, han sido utilizadas para obtener un diagnóstico de preñez más certero, así como un indicador de la viabilidad del feto (Ranilla et al., 1994). Dentro de este grupo se encuentran el lactógeno placentario, las glucoproteínas asociadas a la preñez (PAG's), en donde incluye a la proteína B específica de la preñez (PSPB), al suero proteico 60 de la preñez (PSP-60), y a la glucoproteína asociada a la preñez (PAG) (Patel et al., 1997). Diversos estudios revelan que la PSPB, el PSP-60 y la PAG, tienen secuencias aminoacídicas (amino-terminales) similares, si no es que idénticas. Para evitar confusiones, estas tres glucoproteínas son referidas como PAG-1 (Xie et al., 1991; Lynch et al., 1992).

2.7.2.1. Glucoproteínas asociadas a la preñez

Las glucoproteínas asociadas a la preñez (PAG's), son una familia multigénica perteneciente a la superfamilia de proteinasas asparticas (Xie et al., 1991), las cuales son abundantemente expresadas en la capa superficial de la placenta de los rumiantes (Wooding et al., 2005). Las PAG's, comienzan su expresión al momento de la implantación, y esa expresión persiste durante toda la gestación. Se han aislado distintos genes de PAG's en diferentes especies animales, como por ejemplo, bovinos, ovinos (Xie et al., 1991; 1994; 1997; Green et al., 2005), caprinos (Garbayo et al., 2000), porcinos (Szafranska et al., 1995; Panasiewicz and Szafranska, 2000; 2001), felinos (Gan et al., 1997; Green et al., 1998), raton (Chen et al., 1999) y en equinos (Green et al., 1999).

Roberts et al. (1990), mencionaron que las proteínas secretadas por el trofoblasto han sido por mucho tiempo reconocidas como factores endocrinos involucrados en el reconocimiento materno, y aunque su función biológica no es conocida aún,

estas proteínas son consideradas como un herramienta útil para diagnosticar preñez (Zoli et al., 1991; Zoli et al., 1992), además de proveer información potencial sobre la viabilidad del feto/embrión (Hodgen and Itskovitz, 1988).

Algunas funciones que se les atribuyen a las PAG's incluyen la unión y transporte de péptidos bioactivos (Roberts et al., 1996), agentes luteotrópicos o luteoprotectores (Del-Vecchio et al., 1990; Xie et al., 1994), reguladores de la esteroidogénesis placentaria o como inmunomoduladores (Zoli et al., 1992) y regulación de la migración de células trofoblásticas (Wooding et al., 2005).

El trabajo más reconocido con las PAG's, ha sido el desarrollo y la aplicación comercial de la PSPB como un marcador bioquímico de preñez (Butler et al., 1982). Las concentraciones PAG-1 empiezan a incrementarse alrededor del día 15-35 de gestación, pero debido a la variación que existe entre los animales, el uso de esta glucoproteína como un diagnóstico de preñez efectivo es entre los días 26 al 30 (Humblot, 2001; Zoli et al., 1992).

2.7.2.2. Lactógeno placentario (LP)

El lactógeno placentario es una hormona miembro de la familia de genes de la hormona del crecimiento (GH, growth hormone) y prolactina (PRL), sintetizada y almacenada en los gránulos secretores de la células binucleadas del trofoblasto (Byatt et al., 1992; Wooding, 1992; Gootwine, 2004), y es secretada tanto en la circulación fetal como en la materna. El LP es detectable en el tejido trofoblástico aproximadamente al día 36 de gestación en la vaca, y continúa su secreción durante toda la gestación. En la oveja, el LP puede ser detectado en la circulación materna al día 50, con un pico de concentración de 1-2 ng/ml alcanzado entre los días 120 y 140 de gestación, para posteriormente disminuir hasta el momento parto (Gluckman et al., 1979; Kappes et al., 1992). En la vaca el patrón de concentración materna y fetal de LP es muy similar al de la oveja, sin embargo, en la oveja los niveles de LP son más bajos que en la vaca, puesto que en la vaca el pico alcanzado es de 2-3 ng/ml (Gootwine, 2004). En la vaca el LP es detectable en la circulación materna al cuarto mes de gestación, y su concentración en el suero materno permanece < de 1 a 2 ng/ml a lo largo la gestación. Las

concentraciones en plasma fetal alcanzan un pico máximo hacia el segundo tercio de gestación, para posteriormente estabilizarse y disminuir hasta el momento del parto (Beckers et al., 1982; Byatt et al., 1987).

Aunque su función no está completamente comprendida, estudios realizados *in vivo* e *in vitro* han sugerido que el lactógeno placentario tiene múltiples efectos somatogénicos (GH) y lactogénicos (PRL). Algunas funciones que se le atribuyen al lactógeno placentario, dependiendo de la especie, son la angiogénesis placentar, metabolismo fetal y maternal, desarrollo y función de glándula mamaria, esteroidogénesis placentar y ovárica, tasa de crecimiento y función luteal (Patel et al., 1996; Pedersen et al., 1998; Gregoraszczyk et al., 2000; Corbacho et al., 2002; Gertler and Djiane, 2002; Gootwine, 2004). En roedores, se dice que el LP puede tener una acción luteotrópica (Talamantes and Ogren, 1988). Lucy et al. (1994), demostraron evidencia que el LP bovino tiene una acción similar.

2.8. Incremento de la tasa de supervivencia embrionaria

Diversos estudios se han realizado usando suplementos, hormonas y otros fármacos con el objetivo de incrementar la tasa de supervivencia embrionaria. Dentro de los cuales se puede mencionar al flunixin de meglumine, gonadotropina corionica equina (eCG), progesterona, gonadotropina coriónica humana (hCG) y hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) (Looney et al., 2006).

2.8.1. Flunixin de meglumine

Las pérdidas embrionarias durante el reconocimiento materno, pueden deberse a una inhibición insuficiente de la secreción uterina de PGF2-alfa (Thatcher et al., 2001). La manipulación del útero causa la liberación de PGF2-alfa (Ferguson et al., 1941). Durante la transferencia de embriones (TE), el útero debe ser manipulado para depositar el embrión en el cuerno uterino, lo que causa la liberación de la PGF2-alfa. La liberación inducida de PGF2-alfa durante la TE, puede inhibir el desarrollo embrionario después de la transferencia, y puede ser responsable de la disminución significativa de la tasa de preñez (Rowe et al., 1980; Schrick et al., 2003). El flunixin de meglumine es un potente agente

antiinflamatorio no-esteroidal que inhibe la ciclooxigenasa, previniendo la conversión del ácido araquidónico a PGF₂-alfa (Anderson et al., 1990; Odensvik, 1995). La administración de flunixin de meglumine al momento de la transferencia embrionaria, indicó que este agente antiinflamatorio puede ser benéfico para incrementar la tasa de preñez (Schrick et al., 2001). Purcell et al. (2005), obtuvieron un resultado similar, en donde se mostro un incremento en la tasa de preñez de un 74.7% en vacas tratadas con flunixin de meglumine, contra un 65.0% del grupo testigo. Schrick et al. (2001), reportaron diversas interacciones entre los efectos del flunixin de meglumine y ciertas características embrionarias, dentro de las cuales se puede mencionar el grado de calidad del embrión, la etapa de desarrollo y el tipo de embrión (fresco o congelado).

2.8.2. Gonadatropina coriónica equina (eCG)

Diversos estudios han mostrado resultados diferentes en cuanto al uso de eCG, dependiendo del día del ciclo estral en que se administre. Nogueira et al. (2004), encontraron una tasa de concepción baja en el día 21 después de la transferencia embrionaria en vacas receptoras que recibieron 400 o 600 UI de eCG dos días antes de una administración de PGF₂-alfa (25.0 y 25.6%, respectivamente), comparadas con las vacas testigo que obtuvieron una tasa de concepción de un 44.2%. Se puede especular que en este estudio, un incremento prematuro en la concentración de progesterona pudo haber ocurrido antes del día 5 del ciclo estral, debido a una luteinización prematura de un folículo(s) presente(s) al momento de la administración de eCG. Se ha reportado que 2500 UI de eCG inducen la superovulación y la formación de múltiples cuerpo lúteos, esto se le atribuye a la actividad parecida a la que tiene con la FSH y LH (Dieleman et al., 1993; Vos et al., 1994). Cameron and Batt. (1991) y Kuran et al. (1996), reportaron una luteinización y secreción prematura de progesterona antes de la ovulación, al momento de la administración de eCG.

Se ha demostrado bajas tasas de concepción después de la inseminación artificial en vacas con un alta concentración de progesterona durante las etapas tempranas del ciclo estral (los primeros 5 días del ciclo) (Van Cleeff et al., 1996; Shipley et al., 1988). Durante los primeros 5 días del ciclo estral las

concentraciones de progesterona permanecen a una concentración de <2 ng/ml (Wilmot et al., 1985; Garret et al., 1988a; Burke et al., 1994). Sin embargo, concentraciones más altas (>2 ng/ml) durante este periodo inducen la liberación prematura de PGF2-alfa del endometrio (Garret et al., 1987; Garret et al., 1988a). En contraste con los resultados de Nogueira et al. (2004), Bó et al. (2002) reportaron un incremento en la tasa de preñez en vacas receptoras con múltiples cuerpo lúteos inducidos por la administración eCG al momento de la aparición de la oleada folicular. En este estudio, la oleada folicular fue sincronizada mediante la administración de progesterona (CIDR) y estradiol, seguida de una administración de eCG y PGF2-alfa 5 días después, retiro de la fuente de progesterona al día 8, una administración de estradiol al día 9, y la transferencia a tiempo fijo al día 17.

2.8.3. Progesterona

La concentración periférica de progesterona durante la preñez temprana tiene un efecto significativo en la supervivencia del embrión/feto (Mann et al., 2003). Las bajas concentraciones de progesterona entre los días 3-8 seguidos de la concepción están asociadas con el pobre desarrollo embrionario al día 16 de gestación, lo que resulta en una producción de interferón-tau insuficiente para suprimir la acción luteolítica de la PGF2-alfa (Mann and Lamming, 2001). De igual manera, un retraso en la secreción post-ovulatoria de progesterona ha sido asociada con una disminución en la tasa de preñez, tanto en vacas (Starbuck et al., 1999; Stronge et al., 2005) como en vaquillas (Diskin et al., 2006).

La concentración de progesterona puede ser incrementada mediante la ovulación de un folículo dominante usando GnRH o hCG, para la formación de cuerpo lúteos accesorios (Bartolomé et al., 2005; Franco et al., 2006). El día en que un folículo dominante alcanza la maduración suficiente para responder al tratamiento con GnRH o hCG es alrededor del día 5 (Diskin et al., 2002). El cuerpo lúteo accesorio creado por el tratamiento al día 5, conlleva a un incremento en la concentración plasmática de progesterona al día 8, la cual alcanza un pico máximo al día 16-17 (Kerbler et al., 1997). En un estudio realizado por Chagas y Lopes. (2005), reportaron un incremento (53.5%) en la tasa de preñez al día 28 en vacas receptoras, al administrar al día de la transferencia embrionaria 1500 UI de

hCG, contra un 38.1% en vacas que no fueron tratadas. Las concentraciones plasmáticas de progesterona en las vacas preñadas y tratadas con hCG, fueron significativamente más altas que en las vacas preñadas testigo (no recibieron tratamiento alguno).

La suplementación directa y exógena de progesterona (Cleeff et al., 1991; Mann and Lamming, 1999), permite tener mejor control sobre el tiempo de administración, y además de esta forma se incrementan muy rápido las concentraciones plasmáticas. Esto puede ser logrado mediante la administración intramuscular de progesterona o mediante la inserción de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (Beltman et al., 2009). Estudios han descrito el efecto de los progestágenos exógenos sobre el desarrollo embrionario, por ejemplo Garret et al. (1988), reportaron un avance en el desarrollo embrionario y un incremento en la producción de interferón-tau, al suplementar progesterona en las etapas tempranas de la fase lútea.

Diferentes autores, mencionan que el tiempo crítico para la suplementación de progesterona está entre los días 4 al 5 de gestación, debido a que ésta altera la actividad secretoria del endometrio, influyendo de esta manera en el crecimiento y desarrollo embrionario (Garret et al., 1998; Geiser et al., 1992). Sin embargo, en un estudio la tasa de preñez disminuyó de un 46.4% (en vacas control) a un 18.2% en vacas tratadas con la suplementación de progesterona post-inseminación artificial (Van Cleeff et al., 1996; Garret et al., 1988a; Lynch et al., 1999). En cambio, Mann and Lamming. (1999), concluyeron que la suplementación de progesterona en la preñez temprana conlleva a un incremento de un 5% sobre la tasa de preñez. Otros estudios han demostrado que la inserción de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona entre los días 2 al 7, incremento la tasa de supervivencia del embrión/feto de un 10-15% (Starbuck et al., 1999; Mann and Lamming, 1999). Contrariamente, un estudio demostró que la suplementación de progesterona a partir de los primeros 2 días después de la ovulación y continuándose por 7 días suprimía la fertilidad; de esta forma indica una posible interferencia con el desarrollo endógeno del cuerpo lúteo (Cleeff et al., 1996). Aunque, Beltman et al. (2009) no reportaron tal efecto. En vacas lecheras se incremento la tasa de preñez de un 35 a un 45% al

suplementar progesterona mediante el uso de un CIDR usado del día 3.5 al 10 post-inseminación artificial (Larson et al., 2007).

Beltamn et al. (2009), encontraron una relación positiva entre el incremento de la concentración plasmática de progesterona y la tasa de supervivencia embrionaria, después de suplementar progesterona mediante el CIDR del día 3 al 6.5 post inseminación artificial. Resultados similares se obtuvieron, entre días 4.5 y 8 post inseminación artificial. Con este estudio, se demuestra que el incremento de la concentración de progesterona durante las etapas tempranas de gestación, está asociada con un avance en el desarrollo embrionario conllevando a un incremento en la producción de interferón-tau.

Todas estas investigaciones que se han llevado a cabo sobre la suplementación de progesterona para mejorar o incrementar la tasa de preñez, han mostrado discrepancia en los resultados. En parte, esta variación en los resultados es probablemente debido al hecho que algunos animales con una concentración baja natural de progesterona, exhiben un efecto benéfico seguido de la suplementación de progesterona. Además, el estado fisiológico preciso en el cual el desarrollo embrionario es beneficiado por las altas concentraciones de progesterona, no se conoce aún (Beltman et al., 2009). Pero lo que si se ha demostrado, es que vacas con una baja concentración de progesterona al momento que el embrión estaba en etapa de mórula o blastocito, tenía un pobre desarrollo embrionario al día 16, lo que conllevaba a una producción insuficiente de interferón-tau (Mann and Lamming, 2001).

Carter et al. (2008), mencionan una diferencia en el tamaño embrionario al día 16 cuando se suplemento con progesterona, mediante el uso del PRID (progesterone-releasing intravaginal device), del día 3 de preñez en adelante. Este incremento significativo en el tamaño embrionario al día 16 fue de 5.97 cm para el grupo testigo a 14.06 cm en la vacas suplementadas con progesterona. En cambio en la investigación realizada por Beltman et al. (2009), no existió efecto benéfico sobre la sobrevivencia del embrión al día 25 de gestación. Esto sugiere que la progesterona solamente es crucial para promover un avance en el crecimiento embrionario, esto, para asegurar una fuerte señal anti-luteolítica

(reconocimiento materno). Sin embargo, una vez que ocurra el reconocimiento materno, la tasa de desarrollo embrionario es menos relevante.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar del estudio

La conducción de los experimentos se llevaron a cabo en el Centro de Producción Agropecuaria de la U.A.N.L., ubicado en carretera nacional Cd. Victoria-Monterrey Km 145 AP#93, Linares, N.L., y en el Rancho "El 27" en Villagrán, Tamaulipas; durante los meses de Junio 2008 a Marzo 2009.

3.2. Animales experimentales y mantenimiento

Este estudio involucró la transferencia de embriones frescos y congelados recolectados de 9 vacas donadoras de la raza Simmental (n=7) y Simbrah (n=2). Se utilizaron un total de 57 vacas receptoras de la raza Simmental (n=9), Simbrah (n=6), Tuli (n=7) y cruzas de Simmental x Simbrah (n=35).

Antes de iniciar el estudio se estimó la condición corporal (CC) de los animales receptores, mediante la escala de 1 a 9, donde uno significa animal flaco y nueve animal gordo (Whitman, 1975). La CC promedio fue de 4.6 con un rango de 3.5 – 5 (todos los datos individuales de los animales están en el anexo 1).

Los animales usados en el Centro de Producción Agropecuaria de la U.A.N.L., durante el período Junio 2008 a enero 2009, se mantuvieron en producción semi-intensiva en pastas compuestas de zacates Pretoria y Klein. Los minerales (en polvo) y agua fueron ofrecidos a libre acceso. En cambio, los animales utilizados en Villagrán, Tam., se mantuvieron durante todo el estudio en pastas compuestas de zacate Buffel. Los minerales y agua fueron ofrecidos a libre acceso.

Durante este periodo se realizaron un total de seis programas de transferencia de embriones, de los cuales cuatro se realizaron en el Centro de Producción Agropecuaria (lugar 1, n=22) y dos en Villagrán, Tam (lugar 2, n=35).

3.3. Sincronización y detección del estro de animales receptores

Todos los animales usados en el Centro de Producción Agropecuaria, se trataron igual para la sincronización de estros (Figura 1). El método utilizado fue mediante el uso de progestágenos, para lo cual, se uso el dispositivo intravaginal CIDR (Controlled Internal Drug Release) (*Pfizer*®, 1.9g de progesterona natural micronizada) por 7 días. Al momento de la aplicación del CIDR, se administro 2.76 mg de estradiol intramuscular (Estrol, *Loeffler*® benzoato de estradiol 2.76 mg en 1 ml) y 50 mg de progesterona (Progesterona®, Fort Dodge Progesterona 50 mg en 1 ml). Al retiro del dispositivo CIDR se administró PGF2- α (*LUTALYSE**, *Pfizer*, *Dinoprost Trometamina 5mg en 1 ml* ó *Reprodin*, *Bayer*® Clorprostenol sódico 25mg en 1ml). 24 h después del retiro del CIDR, se administró 1.38 mg (0.5 ml) de estradiol (Estrol, *Loeffler*® Benzoato de estradiol 2.76 mg en 1 ml).

La única diferencia en el tratamiento de sincronización para los animales de Villagrán, Tam; fue la administración de 300 UI (1.5 ml) de gonadotropina coriónica equina (eCG o PMSG) en el día 5 del tratamiento (*Novormon*, *Syntex*; 5000 UI en 25 ml de solvente) (ver Figura 1).

La detección del estro se llevó a cabo mediante observación. Los horarios para la detección de estros fue de 6 pm a 8 pm; 11 pm a 1 am; 6 am a 8 am; y de 11 am a 1 pm.

3.4. Sincronización del estro y superovulación de los animales donadores

La sincronización de los estros se llevó a cabo paralelamente y con el mismo protocolo que las vacas receptoras. Las superovulación se realizo únicamente en las vacas donadoras (ver protocolo con dosis en anexo 2), mediante la administración de Folltropin-V (Bioniche Animal Health, 400 mg de FSH liofilizada en 20 ml). La figura 2 muestra esquemáticamente la forma como se trataron los animales donadores para sincronizar los estros y la superovulación.

3.5. Obtención y transferencia embrionaria

La obtención y la transferencia embrionaria se realizó al séptimo día después de la inseminación artificial de las vacas donadoras. La técnica para recolectar los embriones fue mediante la vía transcervical (no-quirúrgica) usando un catéter Foley (Minitube, Foley catéter, 2-way, 5 cc balloon) de dos vías, y medio PBS (Phosphate Buffered Saline, Bioniche Animal Health). Para facilitar la recolección de los embriones, se administró anestesia epidural (5 ml de clorhidrato de lidocaína al 2%; *PISACAINA® 2% VET*). Una vez recolectados, los embriones fueron clasificados en el laboratorio bajo un microscopio de luz a 10x y 40x. Aquellos embriones que fueron clasificados en etapa de blastocisto o mórula con calidad 1 y 2, se transfirieron en fresco o congelados-descongelados a vacas receptoras que previamente fueron evaluadas y que presentaron un cuerpo lúteo funcional con aproximadamente un diámetro de 1.5 cm. La técnica de transferencia fue por vía transcervical (no-quirúrgica) usando un aplicador francés (Embryo transfer gun, Agtech 21" Sheath, Radiated). El lugar anatómico en donde se deposito el embrión fue en el tercio distal del cuerno uterino ipsilateral al cuerno donde ocurrió la ovulación. Para facilitar la transferencia embrionaria, se administró anestesia epidural mediante la aplicación de 5 ml de Clorhidrato de lidocaína al 2% (*PISACAINA® 2% VET*, 20 mg de clorhidrato de lidocaína en 1 ml).

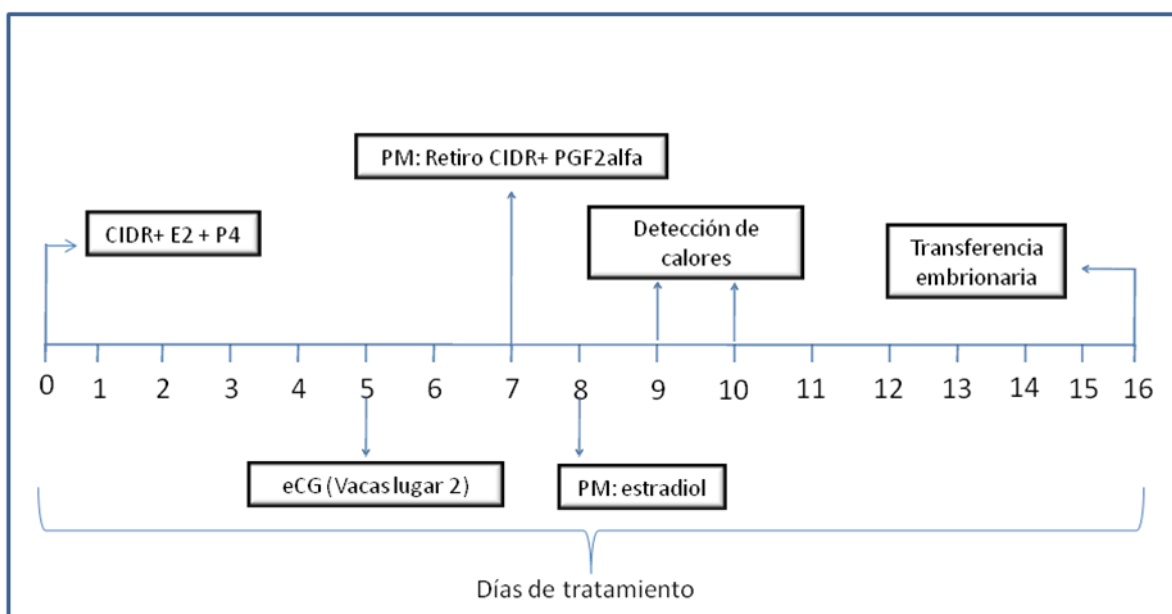


Figura 1. Protocolo de sincronización de estros y transferencia embrionaria en vacas receptoras.

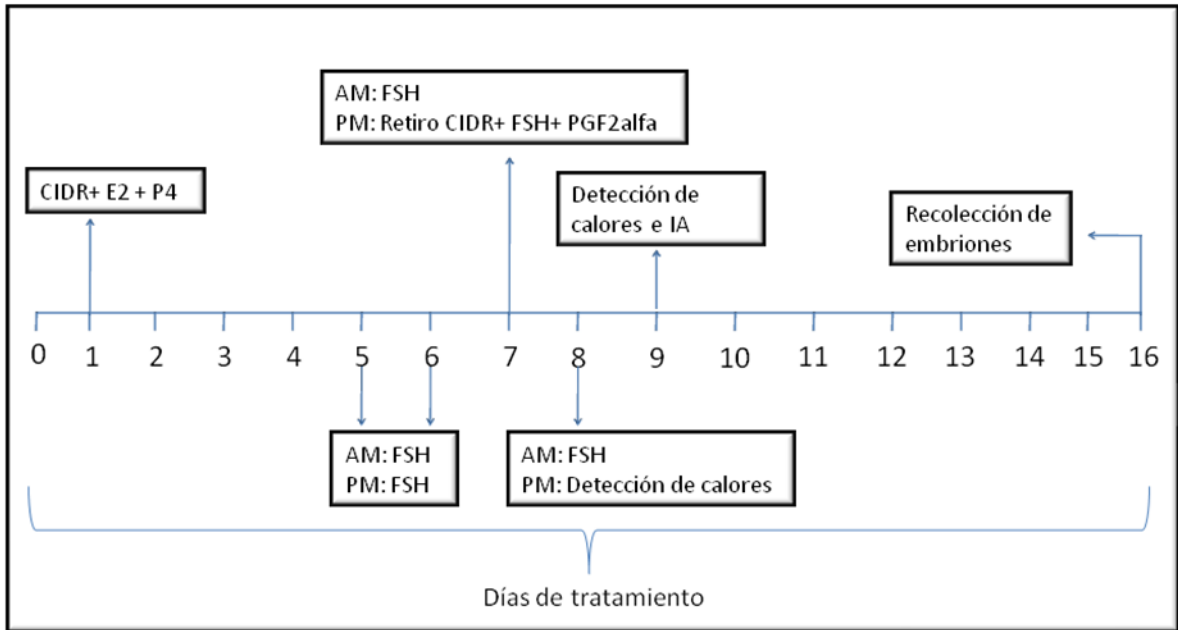


Figura 2. Protocolo de sincronización de estros, superovulación y recolección de embriones en vacas donadoras.

3.6. Lavado y desinfección del CIDR (Controlled Internal Drug Release)

Después del retiro de los dispositivos CIDR de la vagina, durante el protocolo de sincronización de estros; los dispositivos fueron lavados con agua corriente y desinfectados con cloruro de benzalconio (Dermo Cleen® *degasa*), para eliminar cualquier tipo de contaminante. Posteriormente, completamente secos, se almacenaron hasta el día de su reutilización.

3.7. Aplicación del CIDR inmediatamente después de la transferencia embrionaria

Inmediatamente después de la transferencia embrionaria, se aplicó nuevamente el dispositivo intravaginal CIDR (Figura 3). Para esto, las vacas se dividieron en dos grupos de la siguiente manera: Grupo1 (n=29) el CIDR permaneció en la vagina por 7 días y Grupo 2 (n=28) el CIDR permaneció por 14 días.

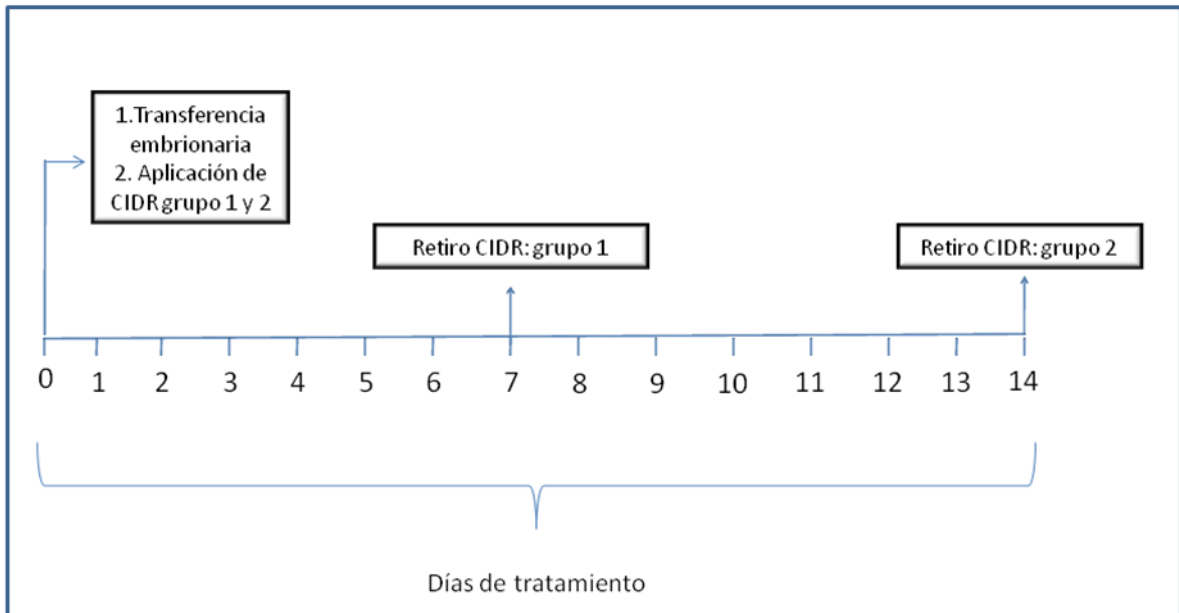


Figura 3. Aplicación del CIDR inmediatamente después de la transferencia embrionaria y retiro a los 7 días (Grupo 1) o 14 días (Grupo 2) después de la transferencia embrionaria.

3.8. Medición de los cuerpos lúteos y diagnóstico de preñez

Durante los días 0, 7, 14 y 21 después de la transferencia embrionaria, se realizaron mediciones de los cuerpos lúteos existentes en los dos ovarios de todas las vacas receptoras de los dos grupos (CIDR por 7 o 14 días). Estas mediciones se realizaron por medio de ultrasonografía (ALOKA SSD 900) usando un transductor transrectal de 7.5 MHz. Así mismo, paralelamente durante los mismos días, se realizó la identificación de los embriones para confirmar la preñez. El diagnóstico definitivo de gestación se realizó el día 45 post transferencia embrionaria mediante palpación rectal y ultrasonografía.

3.9. Diseño estadístico

Los resultados de este estudio fueron analizados mediante el programa SAS (2002). El tratamiento de CIDR fue incluido como efecto principal en el modelo para la conocer el efecto de los tratamientos asignados (7 o 14 días) sobre la tasa de preñez. Para observar la relación entre el tamaño del cuerpo lúteo inmediatamente antes de la transferencia y la tasa de preñez se usó el coeficiente

de correlación de Pearson. Para comparar el efecto del tipo de embrión transferido con la tasa de preñez fue por medio del análisis Chi-Cuadrada (χ^2).

4. RESULTADOS

4.1. Efecto de los tratamientos

Se sometieron un total de 57 animales receptores a la transferencia embrionaria, los cuales se dividieron en dos grupos de acuerdo al tratamiento asignado. El tratamiento 1, corresponde a la inserción y permanencia del CIDR en la vagina durante 7 días, y el tratamiento 2 durante 14 días, en ambos el dispositivo intravaginal fue aplicado al mismo tiempo de la transferencia embrionaria. Los porcentajes de preñez de los animales receptores se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Tasa de preñez de las vacas receptoras de acuerdo al tratamiento.

Tratamiento	Receptoras	Tasa de preñez (%)	S.E.M
Grupo 1	29	24.1	0.018
Grupo 2	28	39.3	0.094

La figura 4 muestra el porcentaje de preñez global, así como también los porcentajes de preñez del grupo 1 (7 días) y 2 (14 días). Las cantidades numéricas se presentan en la tabla 2.

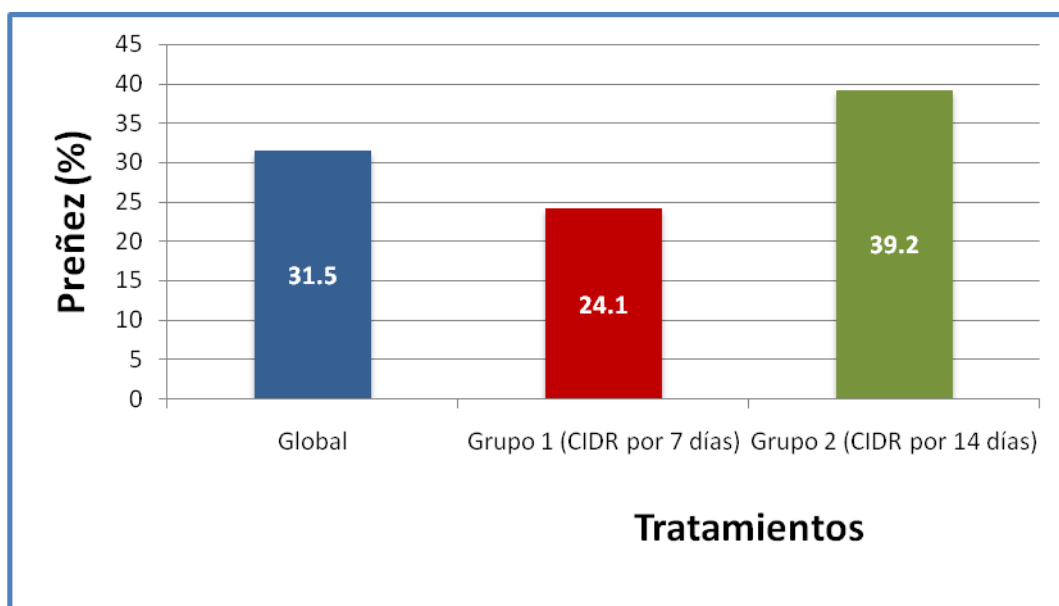


Figura 4. Porcentajes de preñez obtenidos de acuerdo al tratamiento.

La tabla 2 muestra el diagnóstico de gestación para ambos grupos realizado en el día 45 post-transferencia embrionaria por medio de ultrasonografía y palpación rectal.

Tabla 2. Número de animales gestantes y no gestantes de acuerdo a los tratamientos.

Diagnóstico	Grupo 1		Grupo 2	
	(CIDR por 7 días)		(CIDR por 14 días)	
Positivo	7		11	
Negativo	22		17	
Total animales transferidos	29		28	

El diagnóstico de gestación en relación con el tratamiento asignado fue evaluado por medio el análisis estadístico Chi-cuadrada (X^2). Los resultados obtenidos no fueron significativos ($P>0.05$) ($X^2=1.5128$), aunque numéricamente se puede apreciar que el grupo 2 (CIDR por 14 días) obtuvo mejores resultados que el grupo 1 (CIDR por 14 días). En la tabla 3 se muestra la tabla de contingencia con los valores observados y esperados del análisis.

Tabla 3. Tabla de contingencia del diagnóstico de preñez en relación con el tratamiento asignado a cada grupo.

Diagnóstico	Grupo 1		Grupo 2	
	(CIDR por 7 días)		(CIDR por 14 días)	
	O	E	O	E
Positivo	7	9.1	11	8.8
Negativo	22	19.8	17	19.1

O = Frecuencia observada
E = Frecuencia esperada

4.2. Efecto del tipo de embrión transferido (fresco o congelado-descongelado)

Se contabilizó y evaluó el efecto del tipo de embrión transferido, esto es, embrión fresco o embrión previamente congelado y descongelado. La tabla 4 muestra la cantidad, tipo de embriones usados en la transferencia y los porcentajes de no preñez o preñez.

Tabla 4. Cantidad, tipo de embrión transferido y preñez en cada grupo tratamiento.

Tipo de embrión	Grupo 1 (CIDR por 7 días)				Grupo 2 (CIDR por 14 días)			
	n	No preñez	Preñez	%	n	No preñez	Preñez	%
Fresco	15	10	5	33.3	16	11	5	31.2
Congelado-Descongelado	14	2	12	14.2	12	6	6	50.0
Total	29	12	17	58.6	28	17	11	39.3

Se obtuvo un porcentaje de preñez más alto (33.3%) en los animales que se les transfirió un embrión fresco, que en aquellos en los cuales se les transfirió un embrión congelado-descongelado (14.2%) en el grupo 1 (CIDR por 7 días). Sin embargo, en el grupo 2 (CIDR por 14 días) se mostro lo contrario (31.2 y 50.0%, respectivamente) (Tabla 4 y Figura 5).

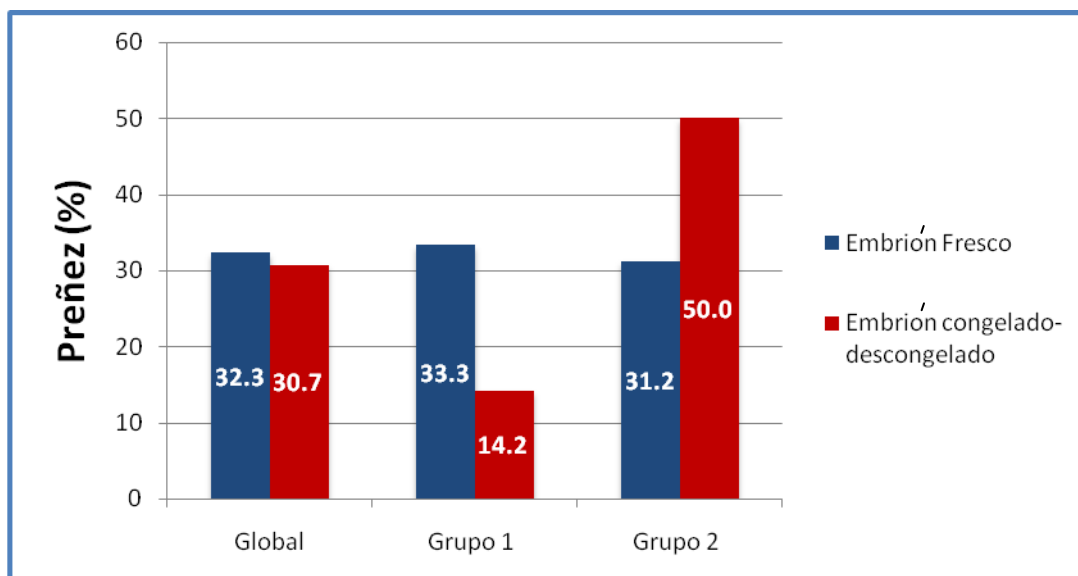


Figura 5. Porcentaje de preñez global y entre grupos (Grupo 1= CIDR por 7 días y Grupo 2= CIDR por 14 días) obtenidos durante el estudio al transferir un embrión fresco o un embrión congelado-descongelado.

El diagnóstico de gestación, tomando en cuenta el tipo de embrión transferido, fue evaluado mediante el análisis estadístico de Chi-cuadrada (χ^2). Los resultados obtenidos de este análisis no fueron significativos ($P > 0.05$) ($\chi^2 = 0.0145$).

Tabla 5. Tabla de contingencia del diagnóstico de preñez en relación con el tipo de embrión transferido.

Diagnóstico	Tipo de embrión			
	Fresco		Congelado-Descongelado	
	O	E	O	E
Positivo	10	9.8	8	8.2
Negativo	21	21.2	18	17.8

O = Frecuencia observada
E = Frecuencia esperada

4.3. Efecto del tamaño del cuerpo lúteo inmediatamente antes de la transferencia embrionaria

Se evaluó la correlación entre el tamaño del cuerpo lúteo inmediatamente antes de la transferencia embrionaria y la tasa de gestación. La tabla 6 muestra las medias de los diámetros de los cuerpos lúteos de acuerdo al tratamiento (7 o 14 días con CIDR) inmediatamente antes de la transferencia. Todas las medidas tomadas por medio del ultrasonido transrectal se muestran en el anexo 3. El análisis demostró que no existe correlación ($r=0.19$, $P>0.05$) alguna entre el tamaño del cuerpo lúteo y la tasa de preñez inmediatamente antes de la transferencia embrionaria.

Tabla 6. Medias de los diámetros (cm) de los cuerpos lúteos de acuerdo al tratamiento (7 o 14 días con CIDR) inmediatamente antes de la transferencia.

Tratamiento	Receptoras (n)	Cuerpo lúteo (\bar{x}, cm)	S.E.M
Grupo 1 (CIDR por 7 días)	29	1.74	0.05
Grupo 2 (CIDR por 14 días)	28	1.83	0.07

5. DISCUSIÓN

La transferencia embrionaria, se estableció como una técnica de reproducción asistida viable para la práctica alrededor de los años 1970's. Diversos factores son los que limitan el resultado exitoso de esta técnica, sin embargo el más importante es la supervivencia embrionaria (Ulberg et al., 1951; McDonald et al., 1952), y a la vez, el factor dependiente de la supervivencia/mortalidad embrionaria es la concentración de progesterona (Inskeep, 2004).

En este estudio se implementó el uso CIDR para mantener o incrementar los niveles de progesterona y como coadyuvante del cuerpo lúteo, de esta forma se trato de mantener su actividad fisiológica con el fin de disminuir la mortalidad embrionaria, y así, aumentar la tasa de preñez del hato.

El porcentaje de preñez en los animales asignados al tratamiento 1 (inserción del CIDR en la vagina inmediatamente después de la transferencia embrionaria por 7 días) fue menor (24.1%), en comparación con el porcentaje de preñez obtenido con el tratamiento 2 (39.2%). Actualmente, no existe evidencia de otros estudios en donde la permanencia del CIDR en la vagina sea similar a 7 días inmediatamente después de la transferencia embrionaria.

El porcentaje de preñez en los animales asignados al tratamiento 2 (inserción del CIDR en la vagina inmediatamente después de la transferencia embrionaria por 14 días) fue menor (39.2%), que el obtenido por Purcell et al. (2005) y Looney et al. (2006) aplicando el mismo tratamiento (60.7 y 73.0%, respectivamente). En estos trabajos de Purcell et al. (2005) y Looney et al. (2006) obtuvieron el grupo testigo y tratamiento con CIDR un 65.0 y 60.7, y 61.0 y 73.0% de preñez, respectivamente. En todos los casos aquí mencionados, incluido el presente estudio, estadísticamente no se encontró diferencia significativa. Sin embargo, numéricamente existe la probabilidad de que un animal mantenga la gestación al aplicar el tratamiento.

A diferencia de los resultados obtenidos por Purcell et al. (2005), en el cual los animales que recibieron un embrión fresco tuvieron mayor probabilidad de quedar gestantes, en comparación de aquellos que se les transfirió un embrión congelado-descongelado (70.6 vs. 65.8%, respectivamente), en el presente trabajo no se encontró dicho efecto. Se obtuvieron resultados similares a los de Purcell et al. (2005) en un estudio realizado por Jones and Lamb. (2008), en donde se noto una disminución de un 83% utilizando embriones frescos, a un 69% con embriones congelados-descongelados. Respecto al cuerpo lúteo, no existió correlación alguna entre el tamaño del cuerpo lúteo inmediatamente antes de la transferencia embrionaria y la tasa de preñez. Estos resultados son similares a los obtenidos en diversos estudios (Looney et al., 2006; Bó et al., 2001; Hasler et al., 1987; Remsen and Roussel, 1982; Coleman et al., 1987).

Diversos factores presentes en el periodo en que se realizó este estudio, pudieron tener alguna influencia sobre los resultados obtenidos. Uno de ellos, el cual puede estar fuertemente asociado a estos resultados, fue la manipulación del útero al momento de la transferencia y el monitoreo del cuerpo lúteo por medio de palpación rectal y ultrasonografía. Durante la transferencia embrionaria, el útero debe ser manipulado para depositar el embrión en el lugar adecuado del cuerno uterino ipsilateral al cuerpo lúteo. Esta manipulación del útero causa la liberación de PGF2-alfa (Ferguson, 1941). En un estudio realizado por Schrick et al. (2003), se menciona que la exposición in vitro de PGF2-alfa a un embrión bovino en estadio de mórula inhibe su desarrollo. En otro estudio, los embriones expuestos a PGF2-alfa exógena in vivo durante los días 5-8 después de la inseminación artificial, no mantuvieron la gestación (Seals et al., 1998). La liberación inducida de PGF2-alfa al momento de la transferencia embrionaria puede ser el factor responsable de la disminución en la tasa de preñez. Es posible que la manipulación durante el monitoreo del cuerpo lúteo y del útero, por medio de palpación rectal y ultrasonografía, haya provocado la liberación de PGF2-alfa, la cual a su vez tiene un efecto negativo sobre la implantación del embrión y su posterior desarrollo y luteólisis.

6. CONCLUSIÓN

Diversos estudios se han conducido con el objetivo de incrementar las concentraciones plasmáticas de progesterona para mejorar los índices de preñez, sin embargo, los resultados aún muestran mucha discrepancia. En la presente investigación los resultados registrados no son la excepción, y aunque estos datos obtenidos no son significativos, demuestran un claro incremento porcentual de la preñez usando CIDR intravaginal.

7. RESUMEN

El objetivo de este estudio fue incrementar la concentración plasmática de progesterona, mediante el uso del CIDR como fuente de progesterona exógena en vacas receptoras para transferencia embrionaria (TE). Este trabajo se llevó a cabo en el Centro de Producción Agropecuaria, Linares de la UANL y en el Rancho "El 27" en Villagrán, Tam. Se utilizaron en total 57 animales receptores de raza Simmental (n=9), Simbrah (n=6), Tuli (n=7) y cruzas de Simmental y Simbrah (n=35). Los embriones fueron recolectados de 9 vacas donadoras Simmental (n=7) y Simbrah (n=2). La sincronización del ciclo estral, para las vacas receptoras, se llevó a cabo mediante el uso del CIDR, estradiol y prostaglandinas. La sincronización y la superovulación de las vacas donadoras se realizó paralelamente con las vacas receptoras y con el mismo protocolo, a excepción de la superovulación. Las vacas receptoras fueron divididas en dos grupos. El grupo 1, corresponde a la inserción del CIDR intravaginal inmediatamente después de la TE y permaneció 7 días, y en el grupo 2 el CIDR permaneció en la vagina 14 días. Durante los días 0 (momento de la TE), 7, 14 y 21 después de la TE, se realizó el monitoreo del cuerpo lúteo (CL) mediante ultrasonografía en ambos grupos. El diagnóstico de gestación definitivo se realizó en el día 45 post-TE mediante palpación rectal y ultrasonografía. Los porcentajes de preñez obtenidos para el grupo 1 y 2 fueron 24.1 y 39.2%, respectivamente sin diferencia significativa ($P>0.05$). Se evaluó el efecto del tipo de embrión transferido sobre la tasa de preñez, sin embargo, no se encontró efecto alguno. Numéricamente, se obtuvo un porcentaje de preñez más alto en los animales que se les transfirió un embrión fresco, que en aquellos en los cuales se les transfirió un embrión congelado-descongelado en el grupo 1 (33.3% vs. 14.2, respectivamente), sin embargo, en el grupo 2 se mostró lo contrario (31.2% vs. 50.0%, respectivamente). No se encontró correlación alguna entre el tamaño del CL inmediatamente antes de la TE con la tasa de preñez. En conclusión, el uso del CIDR usado inmediatamente después de la TE, no tuvo efecto significativo alguno sobre la tasa de preñez. Sin embargo, aunque estos datos obtenidos no son significativos, demuestran un claro incremento porcentual de la preñez usando CIDR intravaginal.

8. LITERATURA CITADA

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

Anderson, K.L., Neff-Davis, A., Davis, L.E., Bass, V.D., 1990. Pharmacokinetics of flunixin meglumine in lactating cattle after single and multiple intramuscular and intravenous administrations. *American Journal of Veterinary Research*. 51, 1464-1467.

Anthony, R.V., Pratt, S.L., Liang, R., Holland, M.D., 1995. Placental-fetal hormonal interactions: Impact on fetal growth. *Journal of Animal Science*. 73, 1861-1871.

Bartolomé, J.A., Melendez, P., Kelbert, D., Swift, K., McHale, J., Hernandez, J., 2005. Strategic use of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. *Theriogenology*. 63, 1026-1037.

Bazer, F.W., 1989. Establishment of pregnancy in sheep and pigs. *Reproduction, Fertility and Development*. 1, 237-242.

Bazer, F.W., Vallet, J.L., Harney, J.P., Gross, T.S., Thatcher, W.W., 1989. Comparative aspects of maternal recognition of pregnancy between sheep and pigs. *Journal of Reproduction and Fertility*. 37, 85-89.

Bazer, F.W., Vallet, J.L., Roberts, R.M., Sharp, D.C., Thatcher, W.W., 1986. Role of conceptus secretory products in establishment of pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility*. 76, 841-850.

Beckers, J.F., deCoster, R., Wouters, Ballman, P., Fromont-Lienard, C., van de Zwalman, P., Ector, F., 1982. Dosage radioimmunologique de l'hormone placentaire somatotrope et mammotrope bovine. *Ann. Med. Vet.* 126:9.

- Beltman, M.E., Lonergan, P., Diskin, M.G., Roche, J.F., Crowe, M.A., 2009.** Effect of progesterone supplementation in the first week post conception on embryo survival in beef heifers. *Theriogenology*. 71, 1173-1179.
- Bó, G.A., Baruselli, P.S., Moreno, D., Cutaia, L., Caccia, M., Tribulo, R., 2002.** The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*. 57, 53-72.
- Bó, G.A., Tribulo, H., Caccia, M., Tribulo, R., 2001.** Pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal devices and transferred without estrus detection. *Theriogenology*. 55, 357 (abstract).
- Breuel, K.F., Fukuda, A., Schrick, F.N., 1993a.** Effects of prostaglandin F₂ α on development of 8-cell rat embryos in vitro. *Biology of Reproduction*. 48 (Suppl.1):173.
- Burke, C.R., Mihm, M., MacMillan, K.L., Roche, J.F., 1994.** Some effects of prematurely elevated concentrations of progesterone on luteal and follicular characteristics during the oestrus cycle in heifers. *Animal reproduction Science*. 35, 27-39.
- Butler, J.E., Hamilton, W.C., Sasser, R.G., Ruder, C.A., Hass, G.M., Willimas, R.J., 1982.** Detection and partial characterization of two bovine pregnancy-specific proteins. *Biology of Reproduction*. 26, 925-933.
- Byatt, J.C., Wallace, C.R., Bremel, R.D., Collier, R.J., Bolt, D.J., 1987.** The concentration of bovine placental lactogen and the incidence of different forms in fetal cotyledons and in fetal serum. *Domestic Animal Endocrinology*. 4:231.
- Byatt, J.C., Warren, W.C., Eppard, P.J., Staten, N.R., Krivi, G.C., Collier, R.J., 1992.** Ruminant placental lactogens: structure and biology. *Journal of Animal Science*. 70, 2911-2923.
- Cameron, A.W.N. and Batt, P.A., 1991.** PMSG may directly stimulate ovulation in female goats. *Animal Reproduction Science*. 25, 233-299.

Capon, D.J., Shepard, H.M., Goeddel, H.V., 1985. Two distinct families of human and bovine interferon- α genes are coordinately expressed and encode functional polypeptides. *Molecular and Cellular Biology*. 5, 768-779.

Carter, F., Forde, N., Duffy, P., Wade, M., Fairm T., Crowe, M.A., 2008. Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reproduction, Fertility, and Development*. 20, 368-375.

Chagas e Silva, J. and Lopes da Costa, L., 2005. Luteotrophic influence of early bovine embryos and the relationship between plasma progesterone concentrations and embryo survival. *Theriogenology*. 64, 49-60.

Chen, X., Roberts, R.M., Green, J., 1999. Murine pepsinogen F: a gastric aspartic proteinase closely related to pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) is also expressed in the placenta. *Biology of Reproduction*. 60, 216 (abstract).

Cleeff, Jv., Drost, M., Thatcher, W.W., 1991. Effects of post insemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. *Theriogenology*. 36, 787-795.

Cleeff, Jv., Macmillan, K.L., Drost, M., Lucy, M.C., Thatcher, W.W., 1996. Effects of administering progesterone at selected intervals after insemination of synchronized heifers on pregnancy rates and resynchronization of returns to service. *Theriogenology*. 46, 1117-1130

Coleman, D.A., Dailey, R.A., Leffel, R.E., Baker, R.D., 1987. Estrous synchronization and establishment of pregnancy in bovine embryo transfer recipients. *Journal of Dairy Science*. 70, 858-866.

Cooper, D.A., Carver, D.A., Villeneuve, P., Silvia, W.J., Inskoop, E.K., 1991. Effects of progestagen treatment on concentrations of prostaglandins and oxytocin in plasma from the posterior vena cava of post-partum beef cows. *Journal of Reproduction and Fertility*. 91, 411-421.

Corbacho, A.M., Martinez De La Escalera, G., Clapp, C., 2002. Roles of prolactin and related members of the prolactin/growth hormone/placental lactogen family in angiogenesis. *Journal of Endocrinology.* 173, 219-238.

Darwash, A.O. and Lamming, G.E., 1998. The importance of milk progesterone concentrations during early pregnancy in the cow. *Journal of Animal Breeding and Genetics.* 2, 41-43.

Del-Vecchio, R.P., Sasser, R.G., Randel, R.D., 1990. Effect of pregnancy-specific protein B on prostaglandin F2 alpha and prostaglandin E2 by day 16-perfused bovine endometrial tissue. *Prostaglandins.*40, 271-282.

Demmers, K.J., Derecka, K., Flint, A., 2001. Trophoblast interferon and pregnancy. *Reproduction.* 121, 41-49.

Dieleman, S.J., Bevers, M.M., Vos PLAM, de Loos FAM., 1993. PMSG/anti-PMSG in cattle: a simple and efficient superovulatory treatment. *Theriogenology.* 39, 25-41.

Diskin, M.G., Austins, E.J., Roche, J.F., 2002. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic Animal Endocrinology.* 23, 211-228.

Diskin, M.G., Murphy, J.J., Sreenan, J.M., 2006. Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. *Animal Reproduction Science.* 96, 297-311.

Ealy, A.D., Larson, S.F., Liu, L., Alexenko, A.P., Winkelman, G.L., Kubish, H.M., Bixby, J.A., Roberts, R.M., 2001. Polymorphic forms of expressed bovine interferon- τ genes: relative transcript abundance during early placental development, promoter sequences of genes and biological activity of protein products. *Endocrinology.* 142 (7), 2906-2915.

Ferguson, J.K.W., 1941. A study of the motility of intact uterus at term. *Surg Gynecol Obstet.* 73:259-366.

Franco, M., Thompson, P.M., Brad, A.M., Hansen, P.J., 2006. Effectiveness of administration of gonadotropin-releasing hormone at Days 11,14 or 15 after

anticipated ovulation for increasing fertility of lactating dairy cows and non-lactating heifers. *Theriogenology*. 66, 945-954.

Gan, X., Xie, S., Green, J., Roberts, R.M., 1997. Identification of transcripts for pregnancy-associated glycoprotein (PAG) in Carnivora and perissodactyla. *Biology of Reproduction*. 56, 190 (abstract).

Garbayo, J.M., Green, J., Manikkam, M., Beckers, J.F., Kielsing, D.O., Ealy, A.D., Roberts, R.M., 2000. Caprine pregnancy-associated glycoproteins (PAGs): their cloning, expression and evolutionary relationship to other PAG. *Molecular Reproduction and Development*. 57, 311-322.

Garret, J.E., Geisert, R.D., Morgan, G.L., Wettemann, R.P., Zavy, M.T., Gries, L.K., et al., 1987. Effect of exogenous progesterone on cycle length, embryonic development and maintenance of pregnancy in the bovine. *Journal of Animal Science*. 65, 418 (abstract).

Garret, J.E., Geisert, R.D., Zavy, M.T., Gries, L.K., Wettemann and Buchanan, D.S., 1988a. Effect of exogenous progesterone on prostaglandin F_{2α} release and the interestrus interval in the bovine. *Prostaglandins*. 36, 85-96.

Garret, J.E., Geisert, R.D., Zavy, M.T., Morgan, G.L., 1998. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*. 84, 437-446.

Geiser, R.D., Morgan, G.L., Short, E.C., Zavy, M.T., 1992. Endocrine events associated with endometrial function and conceptus development in cattle. *Reproduction, fertility and Development*. 4, 301-305.

Gertler, A., and Djiane, J., 2002. Mechanism of ruminant placental lactogen action: molecular and in vivo studies. *Molecular Genetics and metabolism*. 75, 189-201.

Gluckman, P.D., Mueller, P.L., Kaplan, S.L., Rudolph, A.M., Grumbach, M.M., 1979. Hormone ontogeny in the ovine fetus. I. Circulating growth hormone in mid and late gestation. *Endocrinology*. 104, 162-168.

Gnatek, G.C., Smith, L.D., Duby, R.T., Godkin, J.D., 1989. Maternal recognition of pregnancy in the goat: effects of conceptus removal on interestrus intervals and characterization of conceptus protein production during early pregnancy. *Biology of Reproduction*. 41, 655-663.

Gootwine, E., 2004. Placental hormones and fetal-placental development. *Animal Reproduction Science*. 82-83, 551-566.

Green, J. A., Xie, S., Szafranska, B., Gan, X., Newman, A.G., McDowell, K., Roberts, R.M., 1999. Identification of a new aspartic proteinase expressed by the outer chorionic cell layer of the equine placenta. *Biology of Reproduction*. 60, 1069-1077.

Green, J.A., Parks, T.E., Avalle, M.P., Telugu, B.P., McLain, A.L., Peterson, A.J., McMillan, W., Mathialagan, N., Hook, R.R., Xie, S., Roberts, R.M., 2005. The establishment of an ELISA for the detection of pregnancy-associated glycoproteins (PAG's) in the serum of pregnant cows and heifers. *Theriogenology*. 63, 1481-1503.

Green, J.A., Xie, S., Roberts, R.M., 1998. Pepsin-related molecules secreted by trophoblast. *Reviews of Reproduction*. 3, 62-69

Green, M.P., Hunter, M.G., Mann, G.E., 2000. Relationships between maternal hormone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows. *Animal Reproduction Science*. 88, 179-189.

Gregoraszczyk, E.L., Zieba, D., Wierzchos., Murawski, M., Gertler A., 2000. Placental lactogen as a regulator of luteal function during pregnancy in sheep. *Theriogenology*. 53, 877-885.

Harper, M.J.K. and Skarnes, R.C., 1972. Inhibition of abortion and fetal death produced by endotoxin or prostaglandin F_{2α}. *Prostaglandins*. 2, 295:309.

Hasler, J.F., 2001. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology*. 56, 1401-1415

Hasler, J.F., McCauley, A.D., Lathrop, W.F., Foote, R.H., 1987. Effect of donor-recipient interactions on pregnancy rate in large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*. 27, 139-168.

Hauptmann, R. and Swetly, P., 1985. A novel class of human type 1 interferons. *Nucleic Acids Research*. 13, 4739-4749.

Hodgen, G.D. and Itskovitz, J., 1988. In *The Physiology of Reproduction*, eds, Knobil, E, and Neil, J., (Raven, New York), pp. 1995-2000.

Hommeida, A., Nakao, T., Kubota, H., 2004. Luteal function and conception in lactating cows and some factors influencing luteal function after first insemination. *Theriogenology*. 62, 217-225.

Hommeida, A.M. and Al-Afaleq, A.I., 1994. Delayed luteolysis and suppression of testosterone secretion after recombinant ovine interferon treatment in goats (*Capra hircus*). *Journal of Reproduction and Fertility*. 102, 301-304.

Humblot, P., 2001. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. *Theriogenology*. 56, 1417-1433.

Inskeep, E.K., 2002. Factors that affect embryonic survival in the cow: Application of technology to improve calf crops. Pages 255-279 in *Factors Affecting Calf Crop: Biotechnology of Reproduction*. Fields, M.J., Sand, R.S., Yelich, J.V., ed. CRC Press, Boca Raton, FL.

Inskeep, E.K., 2004. Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *Journal of animal science*. 82, 24-39.

Jones, A.L. and Lamb, G.C., 2008. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. *Theriogenology*. 69, 107-115

Kappes, S.M., Warren, W.C., Pratt, S.L., Liang, R., Anthony, R.V., 1992. Quantification and cellular localization of ovine placental lactogen messenger

ribonucleic acid expression during mid- and late gestation. *Endocrinology*. 131, 2829-2838.

Kerbler, T.L., Buhr, M.M., Jordan, L.T., Leslie, K.E., Walton, J.S., 1997. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology*. 47, 703-714.

Kuran, M., Hutchinson, J.S.M., Broadbent, P.J., 1996. The response of bovine granulosa cells to different gonadotrophins in culture. *Animal Reproduction Science*. 45, 1-12.

Larson, S.F., Butler, W.R., Currie, W.B., 2007. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*. 102, 172-179.

Leemaster, J.W., Seals, R.C., Hopkins, F.M., Schrick, F.N., 1999. Effects of administration of oxytocin on embryonic survival in progesterone-supplemented cattle. *Prostaglandins*. 57, 259-268.

Looney, C.R., Nelson, J.S., Schneider, H.J., Forrest, D.W., 2006. Improving fertility in beef cow recipients. *Theriogenology*. 65, 201-209.

Lowman, B.G., 1985. Feeding in relation to suckler cow management and fertility. *The Veterinary record*. 117, 80-85.

Lucy, M.C., Byatt, J.C., Curran, T.L., Curran, D.F., Collier, R.J., 1994. Placental lactogen and somatotropin: hormone binding to the corpus luteum and effects on the growth and functions of the ovary in heifers. *Biology of Reproduction*. 50:1136

Lynch, P.R., Macmillan, K.L., Taufa, V.K., 1999. Treating cattle with progesterone as well as GnRH analogue affects oestrous cycle length and fertility. *Animal Reproduction Science*. 56, 189-200.

Lynch, R.A., Alexander, B.M., Sasser, R.G., 1992. The cloning and expression of the pregnancy-specific protein B (bPSPB) gene. *Biology of Reproduction*. 46, 72 (abstract).

Macmillan, K.L. and Peterson, A.J., 1993. A new transvaginal progesterone-releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrus synchronization, increasing pregnancy rates, and the treatment of post-partum anestrus. *Animal Reproduction Science*. 33, 1-9.

Macmillan, K.L., Taufa, V.K., Day, A.M., 1986. Effects of an agonist of gonadotropin releasing hormone (Buserelin) in cattle.III. Pregnancy rates after a post-insemination injection during metoestrous or dioestrus. *Animal Reproduction Science*. 11, 1-10.

Mann, G.E. and Lamming, G.E., 2001. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction*. 121, 175-180.

Mann, G.E., 2008. Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. *Animal Reproduction Science*, doi: 10.1016/j.anireprosci.2008.11.006

Mann, G.E., Green, M.P., Sinclair, K.D., Demmers, K.J., 2003. Effects of circulating progesterone and insulin on early embryo development in beef heifers. *Animal Reproduction Science*. 79, 71-79.

Mann, G.E. and Lamming, G.E., 1999. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*. 34, 269-274.

Mapletoft, R.J., Lindsell, C.E., Pawlyshyn, V., 1986. Effects of clenbuterol, body condition and non-surgical embryo transfer equipment on pregnancy rates in bovine recipients. *Theriogenology* 25, 172 (abstract).

Maurer, R.R. and Beier, H.M., 1976. Uterine proteins and development in vitro of rabbit preimplantation embryos. *Journal of Reproduction and Fertility*. 48, 33-41.

Maurer, R.R. and Chenault, J.R., 1983. Fertilization failure and embryonic mortality in parous and nonparous beef cattle. *Journal of Animal Science*. 56, 1186-1189.

McDonald, L.M., Nichols, R.E., McNutt, S.H., 1952. Study of corpus luteum ablation and progesterone replacement therapy in the cow. *Animal Journal of Veterinary Research.* 13, 446-451.

McNeill, R.E., Diskin, M.G., Sreenan, J.M., Morris, D.G., 2006. Association between milk progesterone concentration on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. *Theriogenology.* 65, 1435-1441.

Nasu, K., Narahara, H., Matsui, N., Kawano, Y., Tanaka, Y., Miyakawa, L., 1999. Platelet-activating factor stimulates cytokine production by human endometrial stromal cells. *Molecular Human Reproduction.* 5(6), 548-553.

Nogueira, M.F.G., Melo, D.S., Carvalho, L.M., Fuck, E.J., Trinca, L.A., Barros, C.M., 2004. Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF₂ α and eCG?. *Theriogenology.* 61, 1283-1290.

Odensvik, K.H., 1995. Pharmacokinetics of flunixin and its effect on prostaglandin F₂ α metabolite concentrations after oral and intravenous administration in heifers. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.* 18, 254-259.

Panasiewicz, G. and Szafranska, B., 2000. Novel cDNAs encoding catalytically active members of the pPAG2-like gene family in the pig. *ESDAR Newslett.* 5, 49-50.

Panasiewicz, G. and Szafranska, B., 2001. Complementary DNA (cDNA) of pPAG3, a novel member of porcine pregnancy-associated glycoprotein 1-like gene subfamily (pPAG1-like). *BASE.* 5, 43-44.

Patel, O.V., Hirako, M., Takahashi, T., Sasaki, N., Domeki, N., 1996. Plasma bovine placental lactogen concentration throughout pregnancy in the cow; relationship to stage of pregnancy, fetal mass, number and postpartum milk yield. *Domestic Animal Endocrinology.* 13, 351-359.

Patel, O.V., Sulon, J., Beckers, J.F., Takahashi, T., Hirako, M., Sasaki, N., Domeki, I., 1997. Plasma bovine pregnancy-associated glycoprotein

concentrations throughout gestation in relationship to fetal number in the cow. *European Journal of Endocrinology*. 137, 423-428.

Pedersen, J.F., Sorensen, S., Molsted-Pedersen, L., 1998. Serum levels of human placental lactogen, pregnancy-associated plasma protein A and endometrial secretory protein PP14 in first trimester of diabetic pregnancy. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 77, 155-158.

Pritchard, J.Y., Schrick, F.N., Inskeep, E.K., 1994. Relationship of pregnancy rate to peripheral concentrations of progesterone and estradiol in beef cows. *Theriogenology*. 42, 247-259.

Purcell, S.H., Beal, W.E., Gray, K.R., 2005. Effect of a CIDR insert and flunixin meglumine, administered at the time of embryo transfer, on pregnancy rate and resynchronization of estrus in beef cattle. *Theriogenology* 64, 867-878.

Ranilla, M.J., Sulon, J., Carro, M.D., Mantecón, J.F., Beckers, J.F., 1994. Plasmatic profiles of pregnancy-associated glycoprotein and progesterone levels during gestation in Churra and Merino sheep. *Theriogenology*. 42, 537-545.

Remsen, L.G. and Roussel, J.D., 1982. Pregnancy rates relating plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. *Theriogenology*. 18, 365-372.

Roberts, R.M., Farin, C.E., and Cross, J.C., 1990. In *Oxford Reviews of Reproductive Biology*, ed. Milligan, S.R. (Oxford University Press, Oxford), Vol. 12, 147-180.

Roberts, R.M., Xie, S., Mathialagan, N., 1996. Maternal recognition of pregnancy. *Biology of Reproduction*. 54, 294-302.

Rowe, R.F., Del Campo, M.R., Crister, J.K., Ginther O.J., 1980. Embryo transfer in cattle: nonsurgical transfer. *American Journal of Veterinary Research*. 41, 1024-1028.

Sartori, R., Rosa, G.J., Wiltbank, M.C., 2002. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *Journal of Dairy Science*. 85, 2813-2822.

SAS, 2002. SAS/STAT® User's Guide (Release 9). SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Schäfer-Somi, S., 2003. Cytokines during early pregnancy of mammals: a review. *Animal reproduction science*. 75, 73-94.

Schallenberger, E., Schams, D., Meyer, H.H.D., 1989. Sequences of pituitary, ovarian and uterine hormone secretion during the first 5 weeks of pregnancy in dairy cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*. 37, 277-286.

Schneider, Jr H.J., Castelberry, R.S., Griffin, J.L., 1980. Commercial aspects of bovine embryo transfer. *Theriogenology*. 13, 73-85.

Schrick, F.N., Hockett, M.E., Towns, T.M., Saxton, A.M., Wert, N.E., Wehrman, M.E., 2001. Administration of a prostaglandin inhibitor immediately prior to embryo transfer improves pregnancy in cattle. *Theriogenology*. 55, 371 (abstract).

Schrick, F.N., Scenna, F.N., Edwards, J.L., Hockett, M.E., Saxton, A.M., More evidence for a direct interaction between prostaglandin F2 α and development of bovine embryos. In: *Proceedings of the CETA and AETA Joint Annual Convention*; 2003. P. 43-52.

Seals, R.C., Leemaster, J.W., Hopkins F.M., Schrick, F.N., 1998. Effects of elevated concentrations of prostaglandin F2 α on pregnancy rates in progestogen supplemented cattle. *Prostaglandins*. 56, 377-389.

Seidel Jr GE (1991). Applications of embryo transfer. In: *Training manual for embryo transfer in cattle*. Pp 3-13

Shaham-Albalancy, A., Folman, Y., Kaim, M., Rosenberg, M., Wolfenson, D., 2001. Delayed effect of low progesterone concentrations on bovine uterine PGF2 α secretion in the subsequent oestrous cycle. *Reproduction*. 122, 643-648.

Shaham-Albalancy, A., Nyska, A., Kaim, M., Rosenberg, M., Folman, Y., Wolfenson, D., 1997. Delayed effect of progesterone on endometrial morphology in dairy cows. *Animal Reproduction Science*. 48, 159-174.

Shibley, S.K., Fuhuay, J.W., Smith, A.E., Stuart, M.J., 1988. Response of dairy heifers to prostaglandin F₂ α after treatment with human chorionic gonadotropin. *Theriogenology*. 29, 743-749.

Short, R.E., Bellows, R.A., Staigmiller, R.B., Berardinelli, J.G., Custer, E.E., 1990. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *Journal of Animal Science*. 68, 799-816.

Singh, J., Adams, G.P., Pierson, R.A., 2003. Promise of new imaging technologies for assessing ovarian function. *Animal Reproduction Science*. 78, 371-399.

Skopets, B., Li, J., Thatcher, W.W., Roberts, R.M., Hansen, P.J., 1992. Inhibition of lymphocyte proliferation by bovine trophoblast protein-1 (type I trophoblast interferon) and bovine interferon- α 11. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 34 (1-2), 81-96.

Smith, A.K., Broadbent, P.J., Dolman, D.F., Grimmer, S.P., Davies, D.A., Dobson, H., 1996. Norgestomet implants, plasma progesterone concentrations and embryo transfer pregnancy rates in cattle. *The Veterinary Record*. 8, 187-191.

Spell, A.R., Beal, W.E., Corah, L.R., Lamb, G.C., 2001. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*. 56, 287-297.

Spencer, T.E., Burghardt, R.C., Johnson, G.A., Bazer, F.W., 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Animal reproduction science*. 82-83, 537-550.

Spencer, T.E., Johnson, G.A., Bazer, F.W., Burghardt, R.C., Palmarini, M., 2007. Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants:

roles of progesterone, interferons, and endogenous retroviruses. *Reproduction, Fertility and Development*. 19, 65-78.

Sreenan, J.M. and Diskin, M.G., 1987. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. *Theriogenology*. 27, 99-113.

Starbuck, G.R., Darwash, A.O., Lamming, G.E., 1999. The importance of progesterone during early pregnancy in the dairy cow. *Cattle Practice*. 7, 397-399.

Starbuck, G.R., Darwash, A.O., Mann, G.E., Lamming, G.E., 2001. The detection and treatment of post-insemination progesterone insufficiency in dairy cows. In *Proceedings of the Fertility in the High-producing Dairy Cow*, BSAS Occasional Publication, pp. 447-450.

Stronge, A.J.H., Sreenan J.M., Diskin, M.G., Meem J.F., Kenny, D.A., Morris, D.G., 2005. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*. 64, 1212-1224.

Szafranska, B., Xie, S., Green, J., Roberts, R.M., 1995. Porcine pregnancy-associated glycoproteins: new members of the aspartic proteinase gene family expressed in trophectoderm. *Biology of Reproduction*. 53, 21-28.

Talamantes, F., and Ogren, L., 1988. The placenta as an endocrine organ: Polypeptides. In: E. Knobil and J. Neill (Ed) *The Physiology of Reproduction*, p 2093. Raven Press, New York.

Thatcher, W.W., Guzeloglu, A., Mattos, R., Binelli, M., Hansen, T.R., Pru, J.K., 2001. Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle. *Theriogenology*. 56, 1435-1450.

Thatcher, W.W., Macmillan, K.L., Hansen, P.J., Drost, M., 1989. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology*. 31, 149-164.

Tribulo, H., Bo, G.A., Gatti, G., Tegli, J.C., Cutaia, L., Moreno, D. Pregnancy rates in embryo recipients treated with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal device to eliminate the need for estrus detection. In: *Proceedings of the 14th*

International Congress on Animal Reproduction, vol. 2. Stockholm: 2000. P. 115 (abstract).

Ulberg, L.C., Chritian, R.E., and Casida, L.E., 1951. Ovarian response of heifers to progesterone injections. *Journal of Animal Science*. 10, 752-759.

Van Cleeff, J., Macmillan, K.L., Drost, M., Lucy, M.C., Thatcher, W.W., 1996. Effects of administering progesterone at selected intervals after insemination of synchronized heifers on pregnancy rates and resynchronization of returns to service. *Theriogenology*. 46, 1117-1130.

Vincent D.L., Meredith, S., Inskeep, E.K., 1986. Advancement of uterine secretion of prostaglandin E2 by treatment with progesterone and transfer of asynchronous embryos. *Endocrinology*. 119, 527-529.

Vincent, D.L. and Inskeep, E.K., 1986. Role of progesterone in regulating utero-ovarian venous concentrations of PGF2 α and PGE2 during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. *Prostaglandins*. 31, 715-733.

Vos PLAM., van der Schans A., de Wit A.A.C., Willemse, A.H., Bevers, M.M., Bevers, M.M., Dieleman, S.J., 1994. Effect of neutralization of pregnant mare's serum gonadotropin (PMSG) shortly before or at the preovulatory LH surge in PMSG-superovulated heifers on follicular function and development. *Journal of Reproduction and Fertility*. 100, 387-393.

Wann, R.A. and Randel, R.D., 1990. Effect of uterine manipulation 35 days after parturition on plasma concentrations of 13, 14-dihydro-15-keto prostaglandin F2 α in multiparous and primiparous Brahman cows. *Journal of Animal Science*. 68, 1389-1394.

Whitman, R.W., 1975. Weight change, body condition and beef-cow reproduction. Ph.D. Dissertation. Fort Collins: Colorado State Univ; 1975

Wilmut, I., Salesm D.I., Asworth, C.J., 1985. The influence of variation in embryo stage and maternal hormone profiles on embryo survival in farm animals. *Theriogenology*. 23, 107-119.

Wooding, F.B., Roberts R.M., Green, J.A., 2005. Light and electron microscope immunocytochemical studies of the distribution of pregnancy associated glycoproteins (PAGs) throughout pregnancy in the cow: possible functional implications. *Placenta*. 26, 807-827.

Wooding, F.B.P., 1992. The synepitheliochorial placenta of ruminants: binucleate cell fusions and hormone production. *Placenta*. 13, 101-113.

Xie, S., Green, J.A., Bao, B., Beckers, J.F., Valdez, K.E., Hakami, L., 1997. Multiple pregnancy-associated glycoproteins are secreted by day 100 ovine placental tissue. *Biology of Reproduction*. 57, 1384-1393.

Xie, S., Low, B., Nagel, R., Kramer, K., Anthony, R., Zoli, A., Beckers, JF., Roberts, R.M., 1991. Identification of the major pregnancy-specific antigens of cattle and sheep as inactive members of the aspartic proteinase family. *Proceeding of the National Academy of Sciences*. 88, 10247-10251.

Xie, S., Low, B.G., Nagel, R.J., Beckers, J.F., Roberts, R.M., 1994. A novel glycoprotein of aspartic proteinase gene family expressed in bovine placental trophoctoderm. *Biology of Reproduction*. 51, 1145-1153.

Yung, M.C., VandeHaar, M.J., Fogwell, R.L., Sharma, B.K., 1996. Effect of energy balance and somatotropin on insulin-like growth factor 1 in serum and on weight and progesterone of corpus luteum in heifers. *Journal of Animal Science*. 74, 2239-2244.

Zoli, A.P., Beckers, J.F., Wouters-Ballman, P., Closset, J., Falmagne, P., Ectors, F., 1991. Purification and characterization of a bovine pregnancy-associated glycoprotein. *Biology of Reproduction*. 45, 1-10.

Zoli, A.P., Guilbault, L.A., Delahaut, P., Ortiz, W.B., Beckers, J.F., 1992. Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: its application for pregnancy diagnosis. *Biology of Reproduction*. 46, 83-92.

9. ANEXOS

Anexo 1. Datos generales de los animales sometidos a los tratamientos.

Número	Vaca	Raza	C.C	Grupo	Estadio del embrión transferido	Calidad del embrión	Tipo de embrión transferido	Dx. Gestación
1	R21	SH	4	1	Blastocisto	1	Fresco	Positivo
2	N117	SH	4.5	1	Blastocisto	1	Fresco	Negativo
3	R57	SH	4	1	Blastocisto	1	Fresco	Negativo
4	K29	SM	3.5	1	Blastocisto	1	Fresco	Negativo
5	L32	SM	4	1	Blastocisto	1	Fresco	Negativo
6	97E	TI	4.5	1	Blastocisto	1	Fresco	Negativo
7	H64	SM	3.5	1			Fresco	Positivo
8	N95	SM	4	1			Fresco	Positivo
9	T303	TL	4.5	1			Fresco	Negativo
10	N20	SH	4	1	Mórula	1	Congelado	Negativo
11	T303	TL	4	1	Blastocisto	1	Congelado	Negativo
12	723	CR	5	1			Congelado	Negativo
13	198	CR	5	1	Blastocisto	2	Congelado	Negativo
14	107	CR	5	1	Mórula	2	Congelado	Negativo
15	661	CR	5	1	Blastocisto (temp)	1	Congelado	Positivo
16	208	CR	5	1	Blastocisto (temp)	1	Congelado	Negativo
17	730	CR	5	1	Blastocisto (temp)	1	Congelado	Positivo
18	73	CR	5	1	Blastocisto (temp)	2	Congelado	Negativo
19	13	CR	5	1	Blastocisto (temp)	1	Fresco	Negativo
20	260	CR	5	1	Blastocisto (temp)	1	Fresco	Negativo
21	110	CR	5	1	Blastocisto (temp)	1	Fresco	Positivo
22	722	CR	5	1	Blastocisto (temp)	1	Fresco	Negativo
23	283	CR	5	1	Blastocisto (temp)	1	Fresco	Negativo
24	138	CR	5	1	Blastocisto (temp)	2	Fresco	Positivo
25	25	CR	5	1	Blastocisto (temp)	1	Congelado	Negativo
26	674	CR	5	1	Blastocisto (temp)	1	Congelado	Negativo
27	76	CR	5	1	Mórula	2	Congelado	Negativo
28	728	CR	5	1	Mórula	1	Congelado	Negativo
29	102	CR	5	1	Blastocisto (temp)	1	Congelado	Negativo
30	R120	SM	3.5	2	Blastocisto	1	Fresco	Negativo
31	R49	SH	4	2	Blastocisto	1	Fresco	Positivo
32	R122	SM	4	2	Blastocisto	1	Fresco	Negativo
33	N64	SM	4	2	Blastocisto	1	Fresco	Negativo
34	T503	TI	4.5	2	Blastocisto	1	Fresco	Negativo
35	P137	SH	4	2			Fresco	Negativo
36	P109	SM	4	2			Fresco	Positivo
37	L117	SM	3.5	2	Mórula	1	Congelado	Negativo
38	T901	TL	4.5	2	Blastocisto	1	Fresco	Positivo

39	T303	TI	4.5	2	Blastocisto	1	Fresco	Positivo
40	T406	TI	4.5	2	Blastocisto	1	Fresco	Positivo
41	529	CR	5	2	Blastocisto	1	Congelado	Positivo
42	623	CR	5	2	Mórula	2	Congelado	Negativo
43	410	CR	5	2	Mórula	2	Congelado	Negativo
44	714	CR	5	2	Blastocisto (temp)	1	Congelado	Positivo
45	630	CR	5	2	Blastocisto (temp)	1	Congelado	Positivo
46	94	CR	5	2	Blastocisto (temp)	2	Congelado	Positivo
47	662	CR	5	2	Blastocisto (temp)	2	Congelado	Positivo
48	149	CR	5	2	Blastocisto (temp)	1	Fresco	Negativo
49	607	CR	5	2	Blastocisto (temp)	1	Fresco	Negativo
50	704	CR	5	2	Blastocisto (temp)	1	Fresco	Negativo
51	265	CR	5	2	Blastocisto (temp)	2	Fresco	Negativo
52	729	CR	5	2	Blastocisto (temp)	2	Fresco	Negativo
53	670	CR	5	2	Blastocisto (temp)	1	Fresco	Negativo
54	603	CR	5	2	Blastocisto (temp)	1	Congelado	Positivo
55	634	CR	5	2	Blastocisto (temp)	1	Congelado	Negativo
56	708	CR	5	2	Mórula	2	Congelado	Negativo
57	238	CR	5	2	Blastocisto (temp)	1	Congelado	Negativo

Anexo 2. Programa de sincronización del estro para vacas receptoras y donadoras y superovulación.

Vaca donadora	Día de tratamiento	Vaca receptora
	0	CIDR + estradiol + progesterona
CIDR + estradiol + progesterona	1	-
-	2	-
-	3	-
-	4	-
AM :Folltropin PM: Folltropin	5	Novormon (vacas del lugar 2)
AM: Folltropin PM: Folltropin	6	-
AM: Folltropin + 5ml PGF2-alfa. PM: Retiro CIDR + Folltropin + 5ml PGF2-alfa	7	PM: Retiro CIDR + 5 ml PGF2-alfa
AM: Folltropin	8	PM: 0.5 ml estradiol

Folltropin-V (Bioniche Animal Health, 400 mg de FSH liofilizada en 20 ml).

Tratamiento de superovulación para las vacas donadoras

Vaca Donadora	1a dosis de FSH	2a dosis de FSH	3a dosis de FSH	4a dosis de FSH	Dosis total de FSH
AM	40mg (2.0 ml)	32mg (1.6 ml)	24mg (1.2 ml)	16mg (0.8 ml)	196mg (9.8 ml)
PM	36mg (1.8 ml)	28mg (1.4 ml)	20mg (1.0 ml)		

Folltropin-V (Bioniche Animal Health, 400 mg de FSH liofilizada en 20 ml).

Anexo 3. Tamaño del cuerpo lúteo inmediatamente antes de la transferencia embrionaria en el grupo 1 (CIDR por 7 días) y en el grupo 2 (CIDR por 14 días)

Número	Vaca	Grupo	CL inmediatamente antes de T.E (cm)
1	R21	1	1.6
2	N117	1	1.6
3	R57	1	1
4	K29	1	1.7
5	L32	1	1.8
6	97E	1	1.8
7	H64	1	2.1
8	N95	1	1.8
9	T303	1	2
10	N20	1	1.6
11	T303	1	1.4
12	723	1	1.6
13	198	1	1.7
14	107	1	2
15	661	1	1.5
16	208	1	2.1
17	730	1	1.5
18	73	1	1.6
19	13	1	2
20	260	1	2.5
21	110	1	1.4
22	722	1	1.7
23	283	1	1.6
24	138	1	1.6
25	25	1	1.9
26	674	1	2.3
27	76	1	1.8
28	728	1	1.9
29	102	1	1.6
30	R120	2	1.3
31	R49	2	1.9
32	R122	2	1.5
33	N64	2	1.6
34	T503	2	1.2
35	P137	2	1.8
36	P109	2	1.7
37	L117	2	1.9
38	T901	2	2.4

39	T303	2	1.9
40	T406	2	2.3
41	529	2	2.9
42	623	2	2.4
43	410	2	2
44	714	2	1.8
45	630	2	1.9
46	94	2	1.7
47	662	2	2
48	149	2	1.8
49	607	2	1.9
50	704	2	2
51	265	2	1.6
52	729	2	1.4
53	670	2	2.1
54	603	2	1.9
55	634	2	1.5
56	708	2	1.7
57	238	2	1.2