

Fertilidad en vacas lecheras tratadas en la fase lútea temprana con un dispositivo intravaginal liberador de progesterona reutilizado

Graciela Meneses Arias¹

 0000-0002-7902-5109

Fernando Rivera Acuña²

 0000-0001-6475-2445

Hugo Horacio Montaldo¹

 0000-0001-5773-8784

Martha Ramírez López¹

 0000-0003-3129-6150

Joel Hernández Cerón^{1*}

 0000-0002-3892-9427

¹Universidad Nacional Autónoma de México.
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
Av. Universidad 3000, 04510
Ciudad de México, México

²Instituto Tecnológico de Sonora.
Departamento de Ciencias
Agronómicas y Veterinarias,
Av. 5 de Febrero 818 Sur, Col. Centro. CP 85000
Cd. Obregón, Sonora, México.

***Autor para correspondencia:**

Correo electrónico:

jhc@unam.mx

Resumen

Probamos si el tratamiento en la fase lútea temprana con un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (DIV) reutilizado incrementa el porcentaje de concepción (PC) en vacas lecheras. Se realizaron dos experimentos; en el primero, se determinaron las concentraciones de progesterona en vacas tratadas con un DIV reutilizado. Siete vacas recibieron PGF2 α y se insertó durante siete días un DIV reutilizado. Se determinaron diariamente las concentraciones de progesterona, las cuales se incrementaron de 0.42 ± 0.17 ng/mL (media \pm desviación estándar) al momento de la inserción del DIV a 1.99 ± 0.52 ng/mL a las 24 h y a 2.11 ± 0.40 ng/mL a las 48 h; la concentración promedio fue de 1.4 ± 0.55 ng/mL. En el segundo experimento, 383 vacas se asignaron el día cuatro posinseminación a dos tratamientos: DIV ($n = 188$), recibieron un DIV reutilizado, el cual se retiró el día 14; Testigo ($n = 195$), no recibieron dispositivo. Se determinaron las concentraciones de progesterona en siete vacas de cada grupo. El PC no fue afectado por el tratamiento [DIV (33.5 %) vs Testigo (37.4 %); $P > 0.05$]. No se observó interacción del tratamiento con el número de servicio, número de parto, tipo de puerperio (normal o patológico), condición corporal o días en leche ($P > 0.05$). Las concentraciones de progesterona fueron similares entre los tratamientos ($P > 0.05$). Se concluye que la inserción de un DIV reutilizado en la fase lútea temprana no aumenta las concentraciones de progesterona ni incrementa el PC en vacas lecheras.

Palabras clave: progesterona; dispositivo intravaginal; fertilidad; vacas lecheras.

Recibido: 2022-03-03

Aceptado: 2022-05-19

Publicado: 2022-09-08

Información y declaraciones adicionales
en la página 10

© Derechos de autor 2022
Meneses Arias Graciela *et al.*

acceso abierto 



Distribuido bajo una Licencia Creative Commons
Atribución 4.0 Internacional (CC-BY 4.0)

Cómo citar este artículo:

Meneses Arias G, Rivera Acuña F, Montaldo HH, Ramírez López M, Hernández-Cerón J. Fertilidad en vacas lecheras tratadas en la fase lútea temprana con un dispositivo intravaginal liberador de progesterona reutilizado. *Veterinaria México OA*. 2022;9. doi: 10.22201/fmvz.24486760e.2022.1056.

Abstract

In the present study, we tested whether treatment at early luteal phase with a previously used progesterone-releasing intravaginal device (DIV) increases conception rate (CR) in dairy cows. Two experiments were performed; in the first, progesterone concentrations were determined in cows treated with a reused DIV. Seven cows received PGF2 α and a reused DIV was inserted for seven days. Blood samples were collected daily for progesterone determination. Progesterone increased from 0.42 ± 0.17 ng/mL (mean \pm standard deviation) at DIV insertion to 1.99 ± 0.52 ng/mL at 24 h and 2.11 ± 0.40 ng/mL at 48 h after; during the treatment period, progesterone showed an average concentration of 1.4 ± 0.55 ng/mL. In the second experiment, 383 cows were used; on day 4 post insemination, they were randomly divided into two treatments: DIV (n = 188), received a reused DIV, which was withdrawn until day 14; Control (n = 195), did not receive DIV. Progesterone concentrations were determined in 7 cows from each group. The CR was not affected by treatment [DIV (33.5 %) vs. Control (37.4 %); $P > 0.05$]. No interaction was observed between treatment and service number, parity, type of puerperium (normal or pathological), body condition or days in milk ($P > 0.05$). Progesterone concentrations were similar between treatments ($P > 0.05$). We conclude that insertion of a reused DIV at early diestrus did not increase serum progesterone concentrations or increase conception rate in dairy cows.

Keywords: progesterone; intravaginal progesterone-releasing device; dairy cows; fertility.

Contribución del estudio

La vaca lechera de alta producción demanda un elevado consumo de materia seca, lo cual incrementa el catabolismo hepático de la progesterona, condición que se asocia con su baja fertilidad. Se han evaluado diversas estrategias para aumentar la fertilidad mediante la administración de progesterona con resultados variables. En un estudio, el incremento discreto de las concentraciones de progesterona durante la fase lútea temprana con un dispositivo intravaginal liberador de progesterona reutilizado, incrementó la fertilidad. Sin embargo, no había otro trabajo que corroborara dichos resultados. En el presente estudio se probó si la inserción en la fase lútea temprana de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona reutilizado incrementa la fertilidad. Se utilizaron 383 vacas; el día cuatro posinseminación, 188 vacas recibieron un dispositivo reutilizado mientras 195 vacas no recibieron dispositivo. Los resultados no muestran un incremento en la fertilidad en las vacas que recibieron un dispositivo reutilizado.

Introducción

Las anomalías del desarrollo embrionario y la subsiguiente muerte del embrión son la principal causa de falla reproductiva en la vaca lechera.⁽¹⁾ La presentación de anomalías del desarrollo embrionario pueden ser consecuencia de las bajas concentraciones séricas de progesterona que padecen las vacas lecheras en sistemas intensivos de producción, lo cual se debe a que el cuerpo lúteo produce menos progesterona y a que catabolizan más rápido las hormonas esteroides.⁽²⁻⁵⁾

Un enfoque común del manejo clínico de la infertilidad en las vacas lecheras ha consistido en la administración de progesterona mediante un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (DIV); sin embargo, los resultados han sido variables. Mientras en algunos estudios la administración de progesterona incrementa la proporción de vacas gestantes del total inseminado (porcentaje de concepción o G/IA) en otros no se ha observado ningún efecto.⁽⁶⁻⁹⁾

La ventana fisiológica en que se administra la progesterona ha influido en la respuesta. Mann et al. observaron que la suplementación con progesterona entre los días cinco y nueve posinseminación favorece el desarrollo del embrión, mientras que el mismo tratamiento, entre los días 12 y 16, no tiene efecto.⁽¹⁰⁾ Asimismo, las concentraciones de progesterona son críticas para la sobrevivencia del embrión entre los días cuatro y nueve después del estro.^(11, 12) Stronge et al. encontraron también una asociación positiva entre las concentraciones de progesterona entre los días cinco y siete del ciclo estral y la sobrevivencia embrionaria.⁽¹³⁾

Larson et al. propusieron que un incremento discreto de los niveles séricos de progesterona durante la fase lútea temprana podría favorecer el porcentaje de concepción.⁽¹⁴⁾ En su estudio, la inserción del día 3.5 al día 10 posinseminación de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (CIDR) previamente usado, incrementó las concentraciones de progesterona y aumentó el porcentaje de concepción. El incremento de las concentraciones séricas de progesterona en dicho experimento fue de solo 0.7 ng/mL un día después de la inserción del DIV.

Los autores sugieren que el incremento del porcentaje de concepción se debe a ese pequeño aumento en la concentración de progesterona, ya que un aumento mayor, como el ocasionado con el uso de un DIV nuevo, podría tener un efecto

negativo en la vida media del cuerpo lúteo. Estos resultados podrían justificar la utilización de DIV reciclados para incrementar la fertilidad en las vacas lecheras; sin embargo, no existe otro trabajo en el cual se haya evaluado el mismo tratamiento. Por tanto, en el presente estudio se probó si la inserción en la fase lútea temprana de un DIV reutilizado incrementa el porcentaje de concepción en vacas lecheras.

Materiales y métodos

Declaración de ética

El presente trabajo no requirió la aprobación del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales Experimentales (SICUAE), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Las prácticas a las que se sometieron las vacas durante el estudio, tales como la inserción intravaginal de un dispositivo, inyección de PGF2 α , obtención de muestras de sangre y diagnóstico de gestación por vía transrectal, son prácticas de rutina en los hatos comerciales.

Animales

El estudio se realizó en un hato lechero comercial localizado en Tizayuca, Hgo. El clima de la región es templado subhúmedo, con una temperatura anual promedio de 15.5°C y una precipitación pluvial media anual de 861 mm. Las vacas estuvieron en estabulación en corrales con cubículos de libre acceso y recibieron una alimentación que consistió en una ración totalmente mezclada. La producción de leche fluctuó entre 7 000 y 8 000 kg por lactancia (305 días). Las vacas se identificaron en estro mediante la observación de la aceptación de la monta y se inseminaron por dos técnicos bajo el programa am-pm/pm-am. En todos los casos se determinó la presencia de tono uterino, y moco cervical, así como los signos externos del estro. El diagnóstico de gestación se realizó mediante palpación transrectal entre los días 45 y 50 después de la inseminación.

Experimento 1

El objetivo de éste experimento fue determinar las concentraciones séricas de progesterona obtenidas con un DIV reutilizado (PRID Delta; Ceva Salud Animal) en vacas lecheras. Con este fin, se utilizaron siete vacas ciclando, de 50 a 80 días posparto. Los dispositivos ya se habían usado durante seis días en otras vacas; se lavaron con agua corriente y se esterilizaron con irradiación gamma. Previo a la inserción del DIV, las vacas recibieron dos inyecciones de PGF2 α (Celosil; MSD Salud Animal) vía intramuscular con 14 días de intervalo; 24 h después de la segunda inyección de PGF2 α , las vacas recibieron otra inyección de PGF2 α y se les insertó el DIV, el cual permaneció *in situ* siete días.

A partir del día de la inserción, se recolectaron muestras de sangre diariamente durante siete días. Las muestras se obtuvieron mediante venopunción en tubos al vacío sin anticoagulante; las muestras se centrifugaron a 1 500 g durante diez minutos para la separación del suero, el cual se conservó a -20°C. Asimismo, a partir de la inserción del dispositivo a todas las vacas se les colocó un parche detector de

estros (EstroTECT®). Después de retirar el dispositivo se detectaron estros dos veces al día en periodos de dos horas (mañana y tarde).

Experimento 2

Basados en los resultados del experimento 1, en el experimento 2 se determinó el efecto de la inserción en la fase lútea temprana de dicho DIV reutilizado en el porcentaje de concepción en vacas lecheras. Se utilizaron 383 vacas Holstein de 120 ± 3.2 días posparto, de uno a tres servicios, con 3.1 ± 0.09 partos y condición corporal ≥ 2 . El día cuatro después de la inseminación, las vacas se dividieron al azar en dos tratamientos: DIV ($n = 188$), recibieron un DIV reutilizado, el cual se retiró hasta el día 14 posterior a la inseminación; Testigo ($n = 195$), las vacas no recibieron DIV. Se recolectaron muestras de sangre diariamente durante los días de tratamiento en siete vacas del grupo DIV reutilizado y en seis del grupo testigo. Las muestras se obtuvieron mediante venopunción en tubos al vacío sin anticoagulante; las muestras se centrifugaron a 1 500 g durante diez minutos para la separación del suero, el cual se conservó a -20°C .

Determinación de las concentraciones de progesterona

Las concentraciones de progesterona se determinaron mediante radioinmunoanálisis en fase sólida (*Coat-A-Count Progesterona Diagnostic Product Corporation, USA*), con una sensibilidad de 0.1 ng/mL y un coeficiente de variación intraensayo de 6.4 por ciento.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de regresión logística para variables binarias con el propósito de determinar las significancias de los efectos categóricos explicativos del tratamiento, número de servicios, número de parto (primíparas vs multíparas), tipo de puerperio [normal vs patológico (vacas que padecieron retención placentaria y/o secreción vaginal purulenta)], condición corporal y días en leche sobre el porcentaje de concepción. Los datos de progesterona se analizaron con un modelo estadístico lineal mixto usando como efectos fijos días, días², tratamiento, efectos de interacción días x tratamiento y días² x tratamiento. El efecto aleatorio de vaca fue incluido para modelar la estructura repetida de las mediciones, y se incluyó además un efecto residual.⁽¹⁵⁾

Resultados y discusión

En la **Figura 1** se muestran las concentraciones séricas de progesterona del experimento 1. Las concentraciones de progesterona se incrementaron de 0.42 ± 0.17 , al momento la inserción del DIV, a 1.99 ± 0.52 ng/mL a las 24 h y a 2.11 ± 0.40 ng/mL a las 48 h después. Durante el periodo de tratamiento la progesterona sérica mostró una concentración promedio de 1.4 ± 0.55 ng/mL.

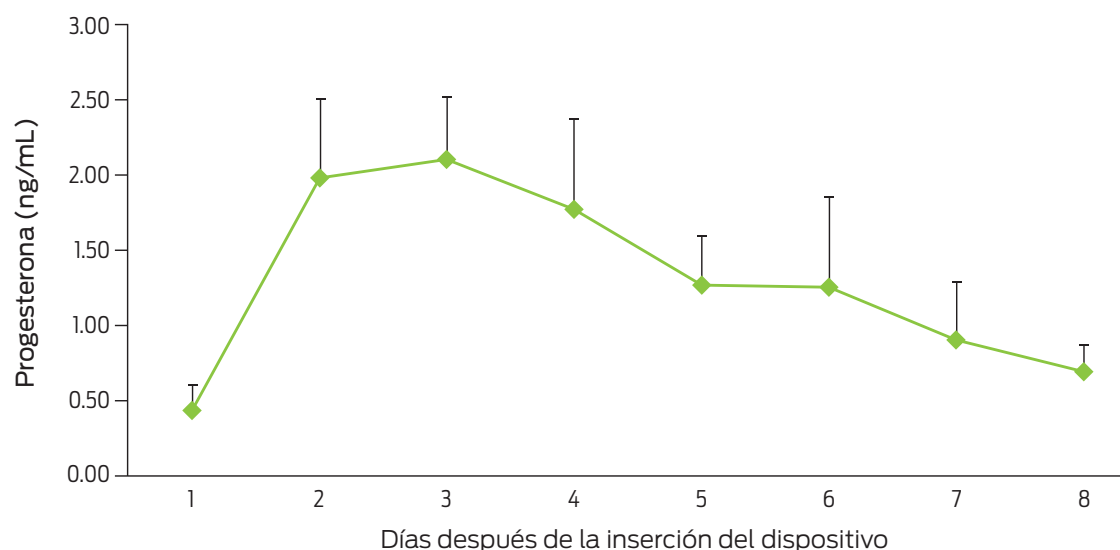


Figura 1. Concentraciones de progesterona (media + desviación estándar) en vacas tratadas con un DIV reutilizado (PRID Delta). El día 1 corresponde al día de la inserción del DIV.

Durante el periodo de tratamiento con el DIV reutilizado, ninguna vaca mostró estro. Después de retirar el DIV todas las vacas presentaron estro. La inserción del DIV reutilizado incrementó las concentraciones séricas de progesterona de manera suficiente para suprimir la presentación del estro y provocar, después de su retiro, la presentación de un estro fértil.

El mejor modelo para este tipo de estudios es el de la vaca ovariectomizada.⁽¹⁶⁾ Sin embargo, en otros estudios diseñados para determinar la progesterona liberada por un DIV utilizan un modelo animal sin la ovariectomía, en el cual después de inducir la luteólisis con dos inyecciones de PGF2 α con 24 horas de intervalo, fijaron un implante auricular de norgestomet durante dos días para evitar la ovulación, antes de insertar el DIV.^(17, 18) En el presente estudio, el hecho de que las vacas que recibieron el DIV reutilizado no hayan mostrado estro durante el tiempo de tratamiento y que hayan presentado un estro sincronizado después de retirar el DIV, permite proponer que la fuente de la progesterona sérica fue únicamente del DIV reutilizado.

Van Cleef et al. utilizaron DIV nuevos y reutilizados durante nueve días (CIDR 1.9 g de progesterona) en vacas lecheras ovariectomizadas.⁽¹⁹⁾ Como era de esperarse, los DIV nuevos lograron concentraciones plasmáticas de progesterona más altas que los DIV reutilizados; asimismo, las concentraciones de progesterona con los DIV reutilizados fueron mayores de 1 ng/mL (media de 1.5 ± 0.14 ng/mL), lo cual es congruente con las concentraciones obtenidas en el presente trabajo, además, el perfil de progesterona obtenido es similar a los perfiles observados con el uso de CIDRs reciclados.^(17, 19)

En nuestro conocimiento no se ha publicado un estudio en el cual se muestre el perfil de progesterona generado con el uso de un PRID Delta reutilizado en vacas lecheras, situación que determinó la realización del primer experimento. La reutilización de los DIV no la recomiendan los fabricantes, no obstante, los DIV reutilizados se usan en programas de sincronización con resultados satisfactorios; además, el tratamiento térmico para la esterilización de los DIV reutilizados (CIDRs)

Cuadro 1. Oportunidad relativa (*Odds ratio*) de gestación de acuerdo con las variables en el modelo de regresión logística

Variables	Clases	Número de vacas	Porcentaje de concepción	<i>Odds ratio</i>	IC 95 %	P
Grupo	DIV	188	33	Referencia		
	Testigo	195	37	1.05	0.6-1.6	0.08
Días en leche*	≤100	187	35	Referencia		
	101-200	145	36	1.37	0.4-1.3	0.29
	>200	45	35	1.15	0.3-2.1	0.77
Número de partos	Primíparas	101	35	Referencia		
	Multíparas	282	36	1.2	0.4-1.4	0.52
Condición corporal	<2.5	15	27	Referencia		
	2.5-3	274	37	1.91	0.9-4.0	0.07
	>3	94	31	1.41	0.5-3.5	0.45
Número de servicio	Primero	203	31	Referencia		
	Segundo	120	42	2.06	1.1-3.7	0.01
	Tercero	60	37	2.24	1.0-5.0	0.04
Puerperio	Patológico	196	32	Referencia		
	Normal	187	39	1.68	1.0-2.7	0.03

*Para días en leche el total de vacas es menor debido a que algunas vacas no tenían esta información en los registros.

facilita la liberación de progesterona, que se refleja en concentraciones plasmáticas de progesterona similares a las observadas cuando se utilizan DIV nuevos.⁽¹⁷⁾

El efecto favorable de las altas concentraciones de progesterona en el desarrollo embrionario se ha demostrado en diversos escenarios,^(9, 20) sin embargo, el efecto de la administración de una fuente externa de progesterona en la fertilidad es contradictorio.^(6 – 9) Los resultados del análisis de regresión logística (Cuadro 1) muestran que el tratamiento con el DIV reutilizado no incrementó la oportunidad relativa (*Odds ratio*) de gestación; tampoco se observó ninguna interacción del tratamiento con las variables incluidas en el análisis. De acuerdo con la hipótesis planteada en el presente estudio, se esperaba que la inserción de un DIV reutilizado provocaría un incremento discreto de las concentraciones de progesterona durante la fase lútea temprana (día cuatro posinseminación), lo cual aumentaría el porcentaje de concepción, sin embargo, la progesterona no se incrementó ni se afectó la fertilidad.

En la Figura 2 se muestran las concentraciones séricas de progesterona del experimento 2, las cuales fueron similares entre las vacas que tuvieron un DIV reutilizado y las testigo ($P > 0.05$). Los resultados del presente trabajo contrastan con los obtenidos por Larson et al., quienes observaron que la inserción de un DIV reutilizado (CIDR) en el día 3.5 posinseminación incrementó ($P < 0.05$) la concentración sérica de progesterona en 0.7 ng/mL, lo cual asocian con un efecto favorable en la fertilidad.⁽¹⁴⁾

La causa de que no se haya observado un incremento significativo de las concentraciones séricas de progesterona en las vacas que recibieron una fuente adicional de esta hormona se desconoce. Un factor que pudo influir es la cantidad de progesterona contenida en los diferentes dispositivos. El dispositivo nuevo utilizado

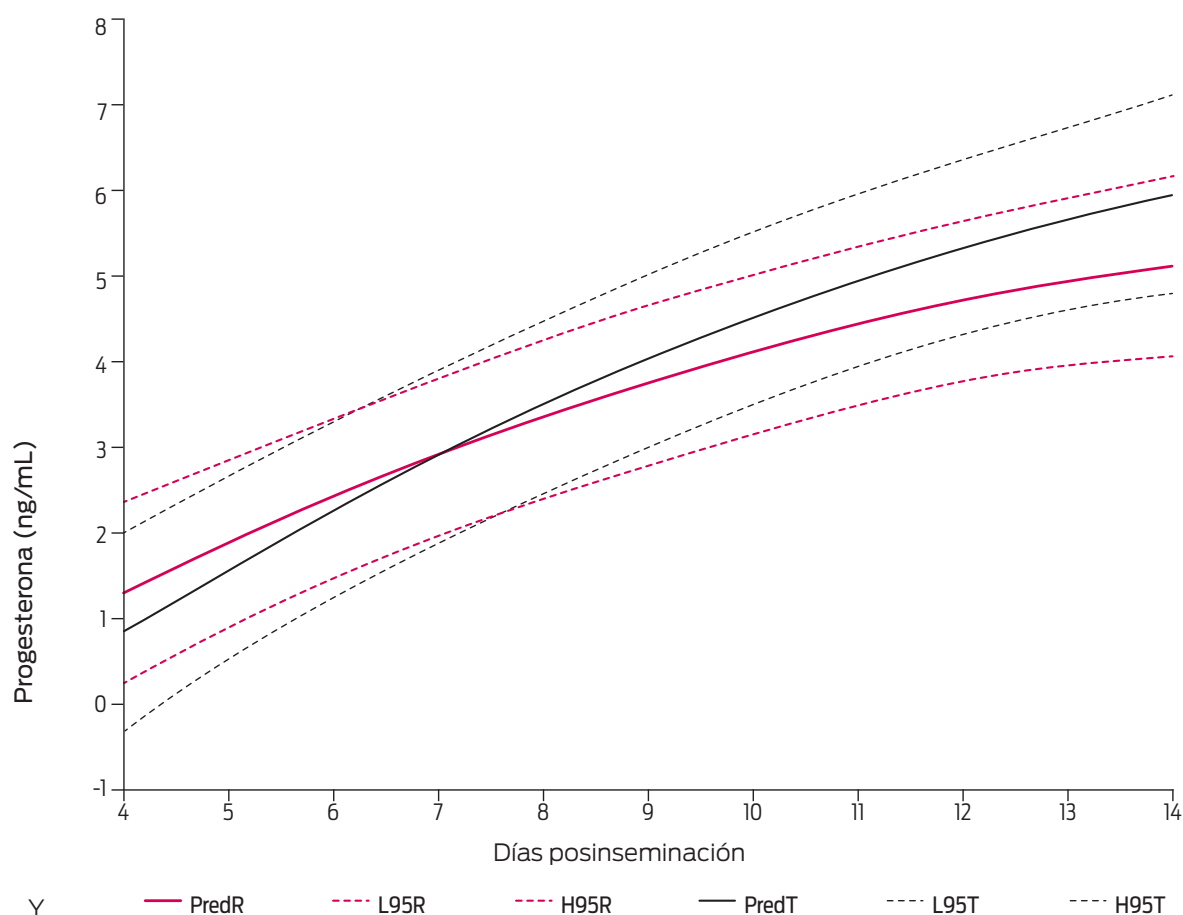


Figura 2. Evolución de los valores predichos (Pred) de la concentración promedio de progesterona sérica en vacas tratadas con un DIV reutilizado (R; líneas rojas) y testigos (T; líneas negras) y límites de confianza inferiores (L95) y superiores (H95) del 95 %, mediante regresión polinomial de segundo grado, entre los días 4 y 14 después de la inseminación. Las concentraciones promedio de progesterona fueron similares entre los tratamientos ($P > 0.05$); sin embargo, la interacción tratamiento x día indica una falta de paralelismo entre las curvas ($P < 0.05$).

en el estudio de Larson et al. contenía 1.9 g de progesterona mientras que en PRID Delta nuevo contiene 1.55 g;⁽¹⁴⁾ así, es posible que después de usarlos una vez, el contenido de progesterona haya sido menor en el PRID Delta que en el CIDR.

Sin embargo, en el presente estudio, la progesterona liberada por el PRID Delta reutilizado, fue similar a la observada en estudios realizados con CIDRs reutilizados.^(17, 19) Por otro lado, la producción de leche, y en particular el consumo de materia seca, determinan la tasa de eliminación hepática de las hormonas esteroideas. Así, las vacas altas productoras tienen menores concentraciones de progesterona sérica que las vacas que producen menos leche o que no están en lactación.^(3, 4) Las vacas utilizadas en el presente trabajo tienen producciones moderadas (7 000 a 8 000 kg de leche/305 días), por tanto era de esperarse que la administración de progesterona exógena se reflejará en mayores niveles séricos de esta hormona, lo cual no ocurrió.

Es probable que la variabilidad de los resultados de fertilidad cuando se administra progesterona entre los diversos estudios publicados depende en gran medida de las diferencias del manejo, consumo de materia seca, cambios de la condición corporal, producción de leche, alimentación, salud uterina, clima, entre

otros factores.^(9, 21) Además, la fuente de progesterona utilizada ha sido básicamente un DIV, el cual es eficaz para la sincronización del estro, es decir, funciona eficientemente para lo que fue desarrollado. Es necesario contar con una fuente exógena de progesterona que genere concentraciones sanguíneas que reemplacen a la progesterona que se elimina por el metabolismo hepático, condición que tiende a agudizarse debido al aumento sostenido de la producción de leche que se observa en las vacas lecheras modernas.

Es oportuno señalar que una estrategia que ha mostrado resultados más consistentes para incrementar las concentraciones sanguíneas de progesterona es la inducción de un segundo cuerpo lúteo con la inyección de hCG en el día cinco después de la inseminación, en varios estudios éste tratamiento ha aumentado el porcentaje de concepción en vacas lecheras.^(22 - 24)

Conclusiones

La inserción en la fase lútea temprana de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona reutilizado no aumentó las concentraciones séricas de progesterona ni mejoró el porcentaje de concepción en vacas lecheras.

Disponibilidad de datos

Los datos generados y analizados en el presente trabajo se harán disponibles a los interesados, previa solicitud al autor para correspondencia.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo de los ganaderos de la Cuenca Lechera de Tizayuca, Hidalgo, así como la colaboración de la MVZ Clara Murcia Mejía en la determinación de las concentraciones de progesterona.

Conflictos de interés

Declaramos que no tenemos conflictos de interés.

Contribución de los autores

Conceptualización: G Meneses, J Hernández, F Rivera.

Manejo de datos: G Meneses, M Ramírez.

Análisis de datos: HH Montaldo, J Hernández.

Investigación: G Meneses, M Ramírez.

Escritura del borrador original: J Hernández, HH Montaldo, F Rivera.

Revision, edición y aprobación de la versión final del manuscrito: J Hernández, G Meneses, F Rivera, H Montaldo, M Ramírez.

Referencias

1. Diskin MG, Parr MH, Morris DG. Embryo death in cattle: an update. *Reproduction Fertility and Development*. 2011;24:244-251. doi: 10.1071/RD11914.
2. Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chapin LT, Fogwell RL. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 1988;71:1063-1072. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(88)79653-8.
3. Sangsritavong S, Combs DK, Sartori R, Armentano LE, Wiltbank MC. High feed intake increase liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17b in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 2002;85:2831-2842. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74370-1.
4. Vasconcelos JL, Sangsritavong S, Tsai SJ, Wiltbank MC. Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. *Theriogenology*. 2003;60:795-807. doi: 10.1016/S0093-691X(03)00102-X.
5. Lonergan P, Sánchez JM. Symposium review: Progesterone effects on early embryo development in cattle. *Journal of Dairy Science*. 2020;103:8698-8707. doi: 10.3168/jds.2020-18583.
6. Van Cleeff J, Drost M, Thatcher WW. Effect of post insemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous response of dairy heifers. *Theriogenology*. 1991;36:795-807. doi: 10.1016/0093-691X(91)90345-E.
7. Macmillan KL, Peterson AJ. A new intravaginal progesterone-releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrous synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. *Animal Reproduction Science*. 1993;33:1-26. doi: 10.1016/0378-4320(93)90104-Y.
8. Villarroel A, Martino A, BonDurant RH, Deletang F, Sisco WM. Effect of post-insemination supplementation with PRID on pregnancy in repeat-breeder Holstein cows. *Theriogenology*. 2004;61:1513-1520. doi: 10.1016/j.theriogenology.2003.09.001.

9. Wiltbank MC, Souza AH, Carvalho PD, Cunha AP, Giordano JO, Fricke PM, Baez GM, Diskin MG. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal*. 2014;8(Suppl 1):70-81. doi: 10.1017/S1751731114000585.
10. Mann GE, Fray MD, Lamming GE. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon- τ production in cow. *The Veterinary Journal*. 2006;171:500-503. doi: 10.1016/j.tvjl.2004.12.005.
11. Inskeep EK. Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *Journal of Animal Science*. 2004;82 (E Suppl.): E24-E39. doi: 10.2527/2004.8213_supplE24x.
12. Parr MH, Crowe MA, Lonergan P, Evans ACO, Rizos D, Diskin MG. Effect of exogenous progesterone supplementation in the early luteal phase post-insemination on pregnancy per artificial insemination in Holstein-Friesian cows. *Animal Reproduction Science*. 2014;150:7-14. doi: 10.1016/j.anireprosci.2014.08.008.
13. Stronge AJ, Sreenan JM, Diskin MG, Mee JF, Kenny DA, Morris DG. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*. 2005;64:1212-1224. doi: 10.1016/j.theriogenology.2005.02.007.
14. Larson SF, Butler WR, Currie WB. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*. 2007;102:172-179. doi: 10.1016/j.anireprosci.2007.02.023.
15. Payne RW. GenStat. WIREs Computational Statistics. 2009;1:255-258. doi: 10.1002/wics.32.
16. Van Werven T, Waldeck F, Souza AH, Floch S, Englebienn M. Comparison of two intravaginal progesterone releasing devices (PRID-DELTA vs CIDR) in dairy cows: Blood progesterone profile and field fertility. *Animal Reproduction Science*. 2013;138:143-149. doi: 10.1016/j.anireprosci.2013.02.010.
17. Melo LF, Monteiro Jr PLJ, Oliveira LH, Guardieiro MM, Drum JN, Wiltbank MC, et al. Circulating progesterone concentrations in nonlactating Holstein cows during reuse of intravaginal progesterone implants sanitized by autoclave or chemical disinfection. *Journal of Dairy Science*. 2018;101:3537-3544. doi: 10.3168/jds.2017-13569.
18. Oliveira e Silva LOE, Valenza A, Alves RLOR, Silva MAD, Silva TJBD, Motta JCL, et al. Progesterone release profile and follicular development in Holstein cows receiving intravaginal progesterone devices. *Theriogenology*. 2021;172:207-215. doi: 10.1016/j.theriogenology.2021.07.001.
19. Van Cleeff J, Lucy MC, Wilcox CJ, Thatcher WW. Plasma and milk progesterone and plasma LH in ovariectomized lactating cows treated with new or used controlled internal drug release devices. *Animal Reproduction Science*. 1992;27:91-106. doi: 10.1016/0378-4320(92)90049-J.
20. Martins T, Sponchiado M, Silva FACC, Estrada-Cortés E, Hansen PJ, Peñagaricano F, et al. Progesterone-dependent and -independent modulation of luminal epithelial transcription to support pregnancy in cattle. *Physiological Genomics*. 2022;25:71-85. doi: 10.1152/physiolgenomics.00108.2021.
21. Friedman E, Roth Z, Voet H, Lavon Y, Wolfenson D. Progesterone supplementation postinsemination improves fertility of cooled dairy cows during the summer. *Journal of Dairy Science*. 2012;95:3092-3099. doi: 10.3168/jds.2011-5017.
22. Santos JEP, Thatcher WW, Pool L, Overton MW. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing

- lactating Holstein dairy cows. *Journal of Animal Science*. 2001;79:2881-2894. doi: 10.2527/2001.79112881x.
23. Nascimento AB, Bender RW, Souza AH, Ayres H, Araujo RR, Guenther JN, et al. Effect of treatment with human chorionic gonadotropin on day 5 after timed artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2013;96:2873-2882. doi: 10.3168/jds.2012-5895.
24. Urzúa E, Valdés LA, Garza A, Mapes G, Gutiérrez C, Hernández-Cerón J. Pregnancy rate in dairy cows treated with human chorionic gonadotropin five days after insemination. *Austral Journal of Veterinary Sciences*. 2017;49:119-122. doi: 10.4067/S0719-81322017000200119.