



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

MAESTRÍA EN MEDICINA VETERINARIA Y PRODUCCIÓN ANIMAL

**Efecto de la GnRH al momento de la inseminación artificial sobre la
fertilidad de vacas Holstein Friesan al primer servicio**

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Medicina Veterinaria y Producción Animal

PRESENTA

BALDEMAR GONZÁLEZ GONZÁLEZ

DIRECTOR DE TESIS

DR. NÉSTOR MÉNDEZ PALACIOS

TUTORES

DR. MAXIMINO MENDEZ MENDOZA

MC. FELÍCITAS VÁZQUEZ FLORES

MC. GERARDO AGUIRRE ESPINDOLA

Tecamachalco, Puebla, Junio 2017.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS UN AGRADECIMIENTO ETERNO POR PERMITIR OBTENER ESTE LOGRO.

AGRADEZCO A MIS PADRES EL SR. BALDEMAR GONZALEZ CERVANTES UANQUE YA NO ESTA CON NOSOTROS PERO SIEMPRE ESTUBO EN CADA MOMENTO DIFICIL DE MI VIDA ADEMAS DE SU APOYO INCONDICIONAL, A MI MADRE SRA. DULCE MARIA GONZALEZ ROMERO POR TODO SU APOYO Y LE AGRADESCO QUE NUNCA ME HA DEJADO SOLO A PESAR DE TODAS LAS DESEPCIONES QUE LE HE CAUSADO NUNCA ME DEJA SOLO Y SIEMPRE ESTA DISPUESTA A APOYARME EN TODO.

A MIS HIJOS ANGIE, BALDEMAR Y JOSUE QUE TENGO LA DICHA DE TENERLOS A MI LADO Y A QUIEN LES DEDICO CON TODO CARÍÑO Y AMOR ESTE TRABAJO.

A MI ESPOSA ELIZABETH ZAYAGOS SANCHEZ POR SU AMOR Y APOYO INCONDICIONAL QUE ME HA BRINDADO TODO ESTE TIEMPO QUE HEMOS COMPARTIDO JUNTOS.

A MI HERMANA DULCE CONCEPCION Y MI CUÑADO FEDERICO RODRIGUEZ POR SU APOYO Y COMPRENSIÓN

AL MVZ FELIPE DOMINGUEZ UN AGRADECIMIENTO ESPECIAL COMO ASESOR COMPAÑERO Y AMIGO POR SU APOYO Y AYUDA EN LA ELEBORACION DE ESTA TESIS. ASI MISMO A TODA SU FAMILIA, GRACIAS.

A MI ASESOR DE TESIS, EL MVZ. DR. MAXIMINO MÉNDEZ MENDOZA POR LA CONFIANZA Y EL APOYO INCONDICIONAL QUE ME BRINDO PARA LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO ASI COMO POR BRINDARME LOS RECURSOS NECESARIOS PARA EL MISMO, ASI MISMO A TODA SU FAMILIA, GRACIAS.

A MVZ MC. FELICITAS VAZQUEZ FLORES Y MVZ DR. NESTOR MÉNDEZ PALACIOS POR EL APOYO Y TIEMPO QUE ME DEDICARON PARA LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

AL MVZ RAYMUNDO ÁVILA BENITEZ A QUIEN LE AGRADESCO SU APOYO Y AYUDA

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE HAN CONTRIBUIDO EN MI FORMACION PROFESIONAL TANTO EN LAS AULAS COMO EN EL CAMPO, GRACIAS.

CONTENIDO

I INTRODUCCIÓN	7
II REVISIÓN DE LITERATURA	8
2.1 Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH).....	8
2.2 Aplicaciones de GnRH para manejo reproductivo.....	10
2.3 El efecto de los tratamientos con GnRH sobre la tasa de preñez.....	10
2.4 Mecanismos y factores a través de los cuales la GnRH puede modificar la fertilidad	15
2.5 Posibles efectos negativos de la GnRH administrada durante el perioestro	17
III OBJETIVOS	19
3.1 Objetivo general	19
3.1 Objetivo específico	19
IV HIPOTESIS	19
4.1 Justificación	19
V MATERIAL Y METODOS	20
5.1 Localización	20
5.2 Metodología	20
5.3 Tratamiento	20
5.4 Exámenes ováricos y diagnóstico de gestación	21

5.5 Variables registradas	21
5.6 Diseño Experimental	21
5.7 Análisis de los resultados	21
5.8 Modelo estadístico	22
5.9 Pregunta de Investigación	22
VI RESULTADOS	23
VII DISCUSIÓN	26
7.1 Condición Corporal (CC)	26
7.2 Tamaño del Cuerpo Lúteo (CL)	27
7.3 Porcentaje de Gestación	27
7.4 Número de partos	28
7.5 Número de servicios	28
7.6 Tipo de parto	29
7.7 Tipo de puerperio	30
VIII CONCLUSIÓN	31
IX REFERENCIAS	32

INDICE DE CUADROS

Cuadro 6.1	Parametros reproductivos de vacas tratadas con GnRH-----	23
Figura 6.2	Grafica de distribución de “t” donde se noto un incremento en la condición corporal después de administrar la GnRH. -----	24
Figura 6.3	Grafica de distribución de “t” en donde se presentan los datos del tamaño del cuerpo luteo (cm).-----	24
Figura 6.4	Grafica de distribución de “t”, se presentan la información referente al numero de servicios por concepción.-----	25
Cuadro 6.5	Variables estudiadas y porcentaje de vacas gestantes tratadas con GnRH-----	26

RESUMEN

El propósito de este trabajo fue evaluar la utilización de GnRH en vacas lecheras con diferentes condiciones reproductivas, Este trabajo se llevará a cabo en la Junta Auxiliar de Santa Rosa, una comunidad perteneciente al distrito de Tecamachalco, que es una de los 15 municipios los cuales están al sur de estado de Puebla, ubicado a los 18° 53" altitud norte, 97° 44" longitud oeste y a 2020 metros sobre el nivel del mar con clima A (w) templado subhúmedo con veranos calurosos. Se utilizarán 200 vacas lecheras Holstein Friesian se dividirán en dos grupos, Grupo I: 117 Vacas 100 µg de GnRH al momento de la Inseminación Artificial y Grupo II: 83 vacas sin GnRH, a las cuales se les aplicó un placebo al momento de la IA, considerando que tenían una Condición Corporal de **4.13±0.36** para grupo control y **4.02±0.37** para vacas tratadas con GnRH. Una variable importante que fue evaluada el tamaño del Cuerpo Lúteo al momento de la Inseminación Artificial siendo **2.44±0.75** cm de diámetro para vacas tratadas con GnRH vs **2.22±0.7** cm de diámetro para vacas sin GnRH ($p<0.01$). En este trabajo las gestaciones fueron del **75%** para vacas no tratadas y del **79%** para vacas tratadas con GnRH. El número de partos para vacas no tratadas con GnRH fue de **3.04±1.2** vs **3.22±0.97**. El número de servicios en vacas tratadas sin GnRH fue de **1.82±0.7** y **3.63±1.60** servicios para las vacas tratadas ($p<0.01$). El tipo parto siendo **1.27±0.44** vs **1.34±10.47**, siendo que los parámetros reproductivos ideales marcan que en tres servicios se deben alcanzar arriba del 95% de gestaciones, buscando lo ideal del 50% de gestaciones a primer servicio y del 60% en vacas de primer servicio (Hernández CJ, 2012 y Méndez et al., 2014). Respecto al tipo de parto se encontró que el **69.5 %** de la vacas tratadas con GnRH tuvieron parto normal y el 73.6 % con parto normal para vacas no tratadas no hubo ($P>0.05$). El tipo de puerperio fue de 56 % presentaron Útero Normal en vacas con GnRH y 63 % Útero Normal en vacas sin GnRH ($P>0.05$).

I. INTRODUCCIÓN

La Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) se ha utilizado en muchos países desde los años 1980s. Siguiendo los principios generales aceptados en la medicina veterinaria, todos los tratamientos médicos se han basado en el examen clínico del animal y en el diagnóstico de los desordenes reproductivos. Las terapias hormonales rutinarias en el manejo reproductivo, por ejemplo programas de sincronización de estros aunque no son usados comúnmente. En general, el gando es tratado con GnRH por cuatro razones: (1) al momento de la Inseminación Artificial (IA) principalmente para aumentar la tasa de concepción en casos de fallas en la ovulación, (2) Tratamientos de quistes ováricos, (3) Tratamiento en anestros prolongados, (4) tratamiento posinseminación para ayudar a la supervivencia del embrión en vacas repetidoras. (Alacam E., et al., 1986). Las estadísticas indican que aproximadamente el 3.5% de las vacas tratadas anualmente con una inyección luteotrópica al momento de la IA lo hacen con GnRH; sin embargo en la unión Europea en los últimos diez años ha decrecido debido a las restricciones que existen en ese país sobre el uso de hormonales en la producción lechera. El calculo de la tasa de tratamientos es muy difícil de calcular no obstante, el tratamiento para quistes ováricos es alta alrededor del 2.5% en el siglo XXI; sin embargo, es imposible determinar el porcentaje de vacas tratadas con GnRH, con Gonadotropina Coriónica Humana o con dispositivos de liberación controlada de progesterona.

En condiciones adversas especialmente cuando existen celos silenciosos es una de las más importantes causas de infertilidad (nutricionales, de manejo, infraestructura, genética), donde solo se aprecian las descargas de moco vaginal como signo de celo por 1- 4 días, es difícil saber exactamente cuando llamar al técnico que insemine a las vacas. Entonces se utiliza el tratamiento con GnRH par inducir la ovulación para inseminar a tiempo fijo, esperando con esto que la tasa de preñez aumente.

Bajo estas circunstancias, el tratamiento con GnRH puede darse uno a dos días antes, o cuando el pico preovulatorio de LH se presente que puede ser dos horas después del inicio celo y tener una duración de 14 horas. Si se aplica la inyección de GnRH incorrectamente o en el momento inadecuado se reduce la fertilidad.

La idea original de este trabajo fue encontrar el momento adecuado para la aplicación de la GnRH y se estableció al momento de la IA con vacas que presentaran diferentes condiciones reproductivas considerando tipo de parto, tipo de puerperio y tamaño del Cuerpo Lúteo (CL) al momento del celo y de la Inseminación Artificial.

II. REVISION DE LITERATURA

La vaca es poliéstrica continua, es decir, los ciclos estrales continúan durante todo el año, a menos que la vaca quede preñada o por alguna patología, también antes de alcanzar la pubertad. La longitud del ciclo estral normal es de 21 ± 3 días en vacas y de 20 ± 3 días en novillas. El ciclo estral se divide comúnmente en cuatro periodos: proestro, estro, 8etaestro y diestro. A veces también se divide en dos periodos basados en hallazgos ováricos: la fase folicular, que comprende proestro, estro y el comienzo de 8etaestro, y la fase luteal que comprende el resto del ciclo estral. Para muchas razas de vacas la duración del estro es en promedio de 15 horas, aunque hay una buena evidencia para Holstein moderno que es mucho menos. La variación normal es, sin embargo, amplia, a saber 2 a 30 horas. Las longitudes de los otros periodos son más difíciles de definir el pico de LH durante las primeras 6 a 12 horas de celo, es decir esta hormona es la responsable de la ovulación, que normalmente ocurre durante las primeras horas del metaestro, aproximadamente 24 a 30 horas después del inicio del celo. El Cuerpo luteo (CL) comienza a desarrollarse a partir de las células originarias de las paredes del folículo ovulatorio, y después de un par de días comienza gradualmente a producir más y más progesterona (P4). Al final del diestro, el endometrio comienza a secretar la prostaglandina F2 (PGF2), que causa la regresión del CL o luteólisis. Durante el proestro, el folículo dominante que madura produce un aumento gradual del estradiol-17 , lo que provoca, la disminución de P4, los signos de comportamiento sexual o receptividad sexual y otros signos de estro. El crecimiento folicular durante el ciclo estral es recurrente, es decir, se desarrollan ondas foliculares, que pueden ser de dos a tres regularmente. Durante un ciclo normal de 21 días, se pueden detectar dos o tres (a veces hasta cuatro) ondas. Así, los folículos más pequeños y más grandes, creciendo y regresando, se pueden ver prácticamente en cualquier momento durante el ciclo. Los principales eventos endocrinológicos durante un ciclo estral son estradiol-17 , al inicio, una vez ocurrida la ovulación se presenta la curva principal que es la progesterona, a su vez se secretan la LH, FSH cada vez que se presenta una onda de crecimiento folicular, para el día 16 o 17 del ciclo el utero empieza a producir PGF2 , si la vaca no quedó gestante durante ese ciclo, viene el folículo dominante qu produce estradiol hay celo, en seguida el pico preovulatorio de LH y la ovulación. Para lograr tasas óptimas de gestación, la IA debe realizarse de 6 a 24 horas antes de la ovulación (Trimberger, 1948).

2.1 Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH)

El aislamiento y la caracterización química de la hormona liberadora de gonadotropina en 1971 por Schally y Guillemin, que recibieron el Premio Nobel por estos logros, fue probablemente uno de los acontecimientos más significativos en la investigación sobre el control neuroendocrino de la reproducción. Después de esto, la traducción del descubrimiento básico a la utilidad clínica con diversas indicaciones fue rápida en medicina humana (Conn y Crowley, 1991).

La investigación básica y las aplicaciones clínicas de la hormona liberadora de gonadotropina en medicina veterinaria se desarrollaron poco después. La síntesis de un metaestro que tiene actividad hormonal de liberación de gonadotropina (Geiger et al., 1971) hizo que la hormona estuviera disponible para la investigación sobre su uso en la reproducción animal. Dado que la liberación de gonadotropinas pituitarias después de la administración de GnRH se informó en bovinos (Kaltenbach et al., 1974, Kinder et al., 1975), se han realizado estudios para evaluar su efecto sobre la función ovárica, sobre el ciclo estral y la luteinización de los quistes ováricos (Bierschwal et al., 1975, Cantley et al., 1975, Bentele y Humke, 1976, Christl, 1976, Garverick et al., 1976, Saalfeld y Hollmann, 1976, Seguin et al., 1976), Sobre la estimulación del desarrollo folicular (Mellin et al., 1975, Shareha et al., 1976), y sobre el tratamiento de la ovulación retardada (Bentele y Humke, 1976). El hallazgo de que la ovulación podría ser inducida por GnRH (Baker et al., 1973, Seeger y Humke, 1975) de manera similar a hCG (Puschel, 1974) sugirió la viabilidad de estudiar sus efectos sobre la fertilidad de las vacas inseminadas artificialmente. Uno de los principales factores que determinan el éxito de la cría artificial es el momento adecuado de la inseminación en relación con la ovulación. La GnRH es un 9etaestro9o de cadena lineal sintetizado en cuerpos celulares de neuronas neurorectoras localizadas en el hipotálamo mediobasal y transportadas por sus axones a áreas circunscritas de la eminencia mediana. Aquí se liberan en el plexo capilar del sistema vascular portal y se transportan a la glándula pituitaria anterior (Beattie, 1982; Thatcher et al., 1993). El GnRH se ha encontrado en el sistema nervioso central de todas las especies de vertebrados examinados. Ambos decapeptidos naturales y sintéticos liberan LH y la hormona folículo estimulante (FSH) e inducen la ovulación en todas las especies de mamíferos hasta ahora examinadas. La inmunización pasiva de una variedad de especies de mamíferos con un antisuero a GnRH reduce los niveles en sangre tanto de FSH como de LH y bloquea la ovulación. Colectivamente, estas observaciones indican que el 9etaestro9o representa el grupo responsable de la liberación de LH y FSH (Beattie, 1982). La vida media plasmática de la GnRH es corta, de dos a cuatro minutos (Bennett y McMartin, 1978; Handelsman y Swerdloff, 1986).

El GnRH es un péptido de ácido piroglutámico. Los fragmentos tripeptídicos y tetrapéptidos amino-terminales de GnRH no estimulan la liberación de gonadotropina. El octapéptido carboxiterminal y el nonapéptido también tienen una actividad de liberación de gonadotropina insignificante. Las sustituciones de aminoácidos individuales alteran drásticamente la actividad liberadora de gonadotropina de la molécula nativa. En general, los aminoácidos en las posiciones 1 y 2 y desde las posiciones 4 a 10 parecen estar implicados sólo en la unión de GnRH a sus receptores de tejido diana y en ejercer efectos conformacionales. Sin embargo, la histidina-2 y el triptófano-3 ejercen un efecto funcional importante, ya que la sustitución de estos L-aminoácidos con otros D-aminoácidos produce análogos de GnRH con una pérdida significativa en la actividad liberadora de gonadotropina e incluso potentes propiedades antagonistas. La eliminación de las posiciones 2 y 3 también conduce a pérdidas dramáticas en la actividad de liberación de gonadotropina (Beattie, 1982).

Las alteraciones en la estructura química de la molécula GnRH nativa han conducido a la síntesis de potentes agonistas de GnRH. Las sustituciones usualmente implican la sustitución de las moléculas de glicina en las posiciones 6 y 10 con un D-aminoácido en la posición 6 y / o un grupo N-etilamida en la posición 10 (Thatcher et al., 1993). El diseño de los agonistas de GnRH se ha dirigido hacia la estabilización de la molécula contra. Debido a las alteraciones en la estructura química, existen diferencias marcadas entre los diversos análogos de la GnRH en sus potencias relativas para liberar LH y FSH en el ganado (Nawito et al., 1977; Chenault et al., 1990). Por ejemplo, el acetato de fertirrelina era aproximadamente cuatro a diez veces más potente que la gonadorelina según se midió mediante la liberación de LH y FSH durante la fase lútea del ciclo estral bovino; La buserelina fue 50 veces más potente que la gonadorelina (Chenault et al., 1990). Los gonadotropos de la pituitaria se convierten en refractarios a la GnRH hasta 48 horas después de la inyección de dosis superiores o iguales a 50 µg de acetato de fertirilina, 500 µg de gonadorelina y 10 µg de gonadotropina \ Mu g de buserelina. Una sola inyección intramuscular (i.m.) de agonistas nativos de GnRH y GnRH proporciona una liberación predecible tanto de LH como de FSH en la circulación periférica durante un período de 3 h (Thatcher et al., 1993).

2.2 Aplicaciones de GnRH para manejo reproductivo.

El control de la función ovárica y la eficacia reproductiva en bovinos con GnRH ha sido estudiado intensivamente (revisión por Thatcher et al., 1993). Las principales aplicaciones clínicas de los tratamientos con GnRH son: tratamiento en el momento de la IA en vacas reproductoras normales y repetidoras, para mejorar la fertilidad, tratamiento de la enfermedad ovárica quística, tratamiento del anestro, programas de sincronización del celo, tratamientos post-inseminación para mejorar la fertilidad, manejo reproductivo postparto. Para mejorar la fertilidad más, en el período de cría y el tratamiento de receptores de transferencia de embriones para mejorar la supervivencia del embrión. En la presente revisión, sólo los tratamientos durante el estro, en el momento de la IA, se discuten en detalle.

Tratamientos con GnRH durante el perioestro y en el momento de la IA para mejorar la fertilidad

2.3 El efecto de los tratamientos con GnRH sobre la tasa de preñez

Un número considerable de estudios han examinado si los tratamientos con GnRH administrados en el momento de la IA son capaces de mejorar las tasas de preñez en el ganado. Los estudios se recogieron en revistas científicas publicadas desde 1974 cubriendo así prácticamente toda la historia del uso de la GnRH en ensayos clínicos veterinarios. Probablemente la mayoría de los estudios que tratan este tema se revisan aquí, con excepción quizás de algunos en revistas nacionales y artículos publicados en otros idiomas que no sean el inglés. Debido a que es obvio

que el número de serie de AI modifica el efecto del tratamiento (Mee et al, 1990, Stevenson et al., 1990), los estudios se han dividido en aquellos en los que el tratamiento se administró en la primera o segunda IA Postparto y en vacas reproductoras (vacas que no conciben después de al menos dos inseminaciones previas).

En 19 de 31 experimentos en los que se administró GnRH en el momento de la primera o segunda AI, se usó GnRH pura (o gonadorelina), mientras que los 12 experimentos restantes utilizaron análogos agonísticos, busarelina, acetato de fertirrelina y sulfonato. Las dosis generalmente variaron alrededor de 100 µg de GnRH pura o análogos agonísticos correspondientes. Sólo en algunos experimentos se utilizaron dosis notablemente mayores. Generalmente, los animales experimentales eran vacas reproductoras; Sólo en cinco ensayos hubo algunos, o todos, novillas de animales. El tratamiento se administró generalmente en el momento de la IA; En cinco experimentos, el tratamiento se administró antes de la IA, pero nunca más de 15 horas antes. En la mayoría de los experimentos, se detectó una tasa de preñez numéricamente mayor después del tratamiento con GnRH, pero la diferencia fue estadísticamente significativa sólo en seis ensayos. Cada uno de estos seis ensayos involucró a más de 200 animales. En un ensayo, se encontró un efecto negativo de la GnRH sobre la tasa de preñez cuando la significación estadística se calculó por separado entre cada tratamiento y el grupo control (Chenault, 1990).

Mee et al. (1990) revisaron 16 estudios (17 experimentos) que informaron la administración de varias dosis de GnRH a ganado lechero en el momento de la IA o de 0 a 6 horas antes de la IA. Se informó una ventaja significativa (6 ensayos) o no significativa (5 ensayos) en la tasa de preñez, mientras que otros (6 ensayos) no informaron ningún beneficio de la administración de GnRH en las tasas de preñez al primer servicio. En general, los estudios demostraron una ventaja en la tasa de preñez de 6 puntos porcentuales (53 vs. 59%) o una mejora del 11% para las vacas tratadas con GnRH en el momento de la primera AI en comparación con los grupos controles no tratados. Sobre la base de estos estudios y sus propios datos, Mee et al. (1990) concluyeron que la administración de GnRH al ganado lechero en los primeros servicios postparto no mejora las tasas de preñez y que no es aconsejable recomendar el uso de la GnRH en los primeros servicios. Basado en la revisión de Mee et al. (1990), Thatcher et al. (1993) llegó a la conclusión en su artículo de revisión que, como los cambios en las tasas de preñez variaron entre los estudios en vacas lecheras de primer servicio de -7 a + 17%, es difícil aceptar que la GnRH está provocando un aumento previsible de la fecundidad que puede aplicarse de manera fiable de rebaño a rebaño.

La reproducción repetida tiene un impacto considerable en la economía de los productores de leche (Bartlett et al., 1986, Lafi y Kaneene, 1992, Lafi et al., 1992) y ha sido objeto de varias revisiones (Casida, 1961, Ayalon, 1978 Hawk, 1979, Ayalon, 1984, Levine, 1999) que presentan diversas explicaciones para el síndrome. En una revisión de Ayalon (1984), la incidencia de problemas reproductivos repetidos en varios países osciló entre el 10 y el 18%. En Finlandia, sin embargo, según la definición estricta que sigue, la incidencia fue de sólo el 1,0%, pero cuando el criterio fue sólo de más de tres IA, la incidencia fue del 7,5% (Rautala, 1991). La definición actual de reproducción repetida incluye fracasos de

la preñez que ocurren después de tres o más las realizadas en el celo con intervalos normales entre el celo en ausencia de anomalías detectables (Zemjanis, 1980). Sin embargo, en la mayoría de los estudios sobre el efecto de la GnRH administrada en el momento de la IA en vacas repetidoras, se clasificaron como vacas que regresan al estro por un tercio o más servicios y sin otras definiciones.

En total, se muestran los resultados de 18 experimentos que estudiaron el efecto de la GnRH administrada en el momento de la IA en vacas repetidoras. En todos ellos, con dos excepciones, se utilizó GnRH pura (o gonadorelina). Las dosis utilizadas fueron también consistentes, a saber. 100 µg de GnRH puro o análogo agonístico correspondiente, con sólo dos excepciones. El tratamiento se administró generalmente en el momento de la IA, en tres experimentos de 0 hasta 15 horas antes de la IA. En 14 experimentos, se detectó una tasa de preñez numéricamente aumentada después del tratamiento con GnRH; En cinco de ellos el aumento fue significativo. Los cinco de estos fueron los ocho ensayos que utilizaron más de 300 IA. En tres experimentos, se detectó una disminución numérica, pero no significativa, de la tasa de preñez, de 9 a 15% fue detectada.

Stevenson et al. (1990) revisaron ocho estudios (nueve experimentos) en los que se utilizó la GnRH como tratamiento para la reproducción repetida en el momento de la IA, o de 0 a 12 horas antes. En conjunto, estos estudios demostraron una ventaja global en la tasa de preñez de siete puntos porcentuales, lo que corresponde a un aumento del 18%, para las vacas repetidoras tratados con GnRH en comparación con las vacas repetidoras no tratados. Según sus propias conclusiones, observaron consistentemente un aumento en las tasas de preñez después del tratamiento con GnRH de vacas repetidoras en tres experimentos con vacas con condiciones periparturales normales o anormales en siete rebaños diferentes (Stevenson et al., 1984, Phatak et al., 1986, Stevenson et al., 1988). Concluyeron que la decisión de utilizar GnRH para las vacas repetidoras en cualquier rebaño debe ser pesada contra la posibilidad que su eficacia no se ha validado consistentemente en todos los rebaños. Sin embargo, la preponderancia de los estudios con observaciones repetidas en muchos lugares verifica el beneficio de la GnRH como un tratamiento eficaz para las vacas repetidoras.

Aunque la mayoría de los experimentos demostraron una tasa de preñez aumentada, pocos ensayos alcanzaron significación estadística. Para muchos ensayos, la falta de significación puede atribuirse a un tamaño de muestra insuficiente (Morgan y Lean, 1993). Se han utilizado técnicas meta-analíticas para combinar datos de muchos estudios en un único análisis (L'Abbe et al., 1987). Esta es una técnica potencialmente poderosa para evaluar los resultados de los ensayos clínicos en conflicto y es muy adecuada para resolver las preocupaciones sobre la eficacia del tratamiento de vacas con GnRH en la inseminación para mejorar la fertilidad (Morgan y Lean, 1993). En el estudio de Morgan y Lean (1993), los datos de 40 ensayos descritos en 27 artículos publicados fueron sometidos a un metanálisis para evaluar los efectos de tales tratamientos en un total de 19.019 vacas implicadas en estos estudios. Morgan y Lean estratificaron estos datos por ensayo y por los efectos de la dosis de GnRH, el tipo de GnRH y el número de veces inseminados (primero, segundo o tercero y mayores que se

clasificaron como vacas repetidoras) en cinco grupos de la siguiente manera: En la primera AI se usaron análogos agonísticos de GnRH (buserelina, acetato de fertililina, sulfonato), 10 ensayos utilizaron dosis de GnRH nativa de menos de 125 µg a la primera AI, 3 ensayos utilizaron dosis de GnRH nativa mayores o iguales a 250 µg a la primera AI, 8 ensayos investigaron el efecto de la GnRH nativa o sus análogos agonísticos en la segunda AI y 11 ensayos evaluaron el efecto de la GnRH nativa o su análogo agonístico en las vacas repetidoras. La información recogida se utilizó para calcular el riesgo relativo y los intervalos de confianza del 95% para el riesgo relativo de preñez en vacas tratadas utilizando la prueba de Mantel-Haenszel. La estimación del riesgo relativo de Mantel-Haenszel es una forma de evaluar los datos agrupados que permiten controlar el efecto de la estratificación y es un método apropiado para el metanálisis (L'Abbe et al., 1987). Aunque Morgan y Lean (1993) usaron criterios estrictamente definidos para realizar su metanálisis, hicieron numerosos errores al seleccionar los ensayos y al informar el número de casos en cada uno de los cinco grupos. El diseño experimental utilizado en uno de los artículos incluidos en el grupo que trata con análogos agonistas de GnRH en la primera AI no coincide con el tema del metanálisis. Además, los datos presentados en un estudio se informó de nuevo, junto con datos adicionales, en un estudio posterior; Sin embargo, Morgan y Lean (1993) trataron estos dos conjuntos de datos como totalmente separados. En su estudio de dosis bajas de GnRH en la primera IA, Morgan y Lean (1993) informaron sólo algunos de los datos de dos ensayos, y otro documento es tan poco claro que puede haber sido imposible para ellos referirse a él con precisión. En su estudio de la GnRH nativa o su análogo agonístico en las vacas repetidoras, Morgan y Lean (1993) incluyeron sólo algunos de los datos de un trabajo y en un caso incluyeron datos de una segunda inseminación al referirse a la tabla equivocada. La peor situación es en la parte del metanálisis que trata del uso de la GnRH nativa o de sus análogos agonísticos en la segunda IA. Cuatro de los ocho ensayos reportados aquí no estudian el efecto de la GnRH administrada en la segunda AI, pero en realidad los efectos de retraso de los tratamientos con GnRH administrados en la primera IA.

A pesar de estos muchos errores, es obvio que no sesgaban los resultados porque el número de estudios y animales referidos es tan grande y los errores parecen distribuirse de manera bastante uniforme. Sin embargo, los resultados del metanálisis que implica la GnRH nativa o sus análogos agonísticos en la segunda IA deben ser interpretados con precaución. El análisis de los datos agrupados de todos los estudios reveló que el uso de GnRH en la inseminación significativamente ($P < 0,05$) aumentó el riesgo global de preñez en un 12,5% en las vacas tratadas en comparación con los controles. Hubo un aumento significativo ($P < 0,05$) en el riesgo de preñez en vacas tratadas con análogos agonistas de GnRH en la primera AI (aumento del riesgo del 8,0%) o altas dosis (250 µg) de GnRH nativa a la primera AI (11,0%) En la segunda IA (9,9%) y en vacas repetidoras (22,5%). El riesgo de preñez por el tratamiento con dosis bajas (<125 µg) de GnRH nativa en la primera IA (5,2%) no fue significativamente diferente del grupo control. Sin embargo, el riesgo relativo de preñez después de dosis bajas fue similar al de los análogos agonísticos de la GnRH, la segunda IA y las altas dosis de la GnRH pura. Los autores concluyeron que el tratamiento con

GnRH en la inseminación aumenta el riesgo de preñez. Los resultados obtenidos de este análisis fueron relativamente homogéneos, excepto que las vacas repetidoras respondieron mejor al tratamiento que los otros grupos. Los ensayos individuales que tuvieron resultados extremos tendieron a ser pequeños y por lo tanto tenían amplios intervalos de confianza.

Las vacas repetidoras pueden considerarse como un modificador de efecto para la relación entre el tratamiento con GnRH y la fertilidad. Esta observación apoya la conclusión de que algunas poblaciones ganaderas se benefician más del tratamiento que otras.

De acuerdo con Thatcher et al. (1993), el concepto de tratar vacas repetidoras con GnRH se ha nublado debido a las dificultades en la definición de una verdadera clase de vacas infértiles y la incertidumbre sobre si responden específicamente a GnRH. Un componente de la definición tradicional de vacas repetidoras, tal como lo define Casida (1961), es que la calidad del semen y las circunstancias de inseminación deben ser óptimas para identificar esta clase de vacas, que tienen mayores tasas de óvulos defectuosos, pérdida de óvulos, pérdida embrionaria. Si las vacas con al menos tres AI se definen como vacas repetidoras, es fundamental que los factores de manejo como la detección estricta exacta, el momento de la inseminación, el manejo del semen y las habilidades del inseminador sean óptimos y que las vacas con anomalías palpables del tracto reproductivo sean excluidas. Este conjunto de factores de gestión contribuye sin duda a la variabilidad del hato en el éxito de los tratamientos con GnRH.

En una evaluación económica en condiciones americanas, Weaver et al. (1988) concluyeron que los rebaños con tasas de concepción del 45% o menos se beneficiaron del tratamiento con GnRH en la primera o segunda AI; Los rebaños con tasas de concepción de 60% o más se beneficiaron con el tratamiento con GnRH sólo en las IA secundarias o posteriores. Según Morgan y Lean (1993), los tratamientos con GnRH en el momento de la IA redujeron el número de días abiertos de la siguiente manera: análogos agonísticos de la GnRH utilizados en la primera IA, 1,7 días; Dosis bajas (<125 µg) de GnRH nativa administrada a la primera AI, 1,1 días; Dosis altas (250 µg) de GnRH nativa administradas a la primera AI, 2,3 días; Y la GnRH nativa o sus análogos agonísticos dados a los criadores repetidos en IA, 4,7 días. Se ha estimado que en condiciones finlandesas el alargamiento de un día en el intervalo de parto de 11 meses causa una pérdida económica de aproximadamente 1,0 a 1,3 (J. Taponen, inédito). Debido a los gastos veterinarios y de medicamentos, es cuestionable si este tratamiento es rentable en Finlandia, incluso en vacas repetidoras.

En conclusión, parece obvio que la administración de GnRH y sus análogos agonistas en el momento de la IA aumentan las tasas de preñez. La magnitud del aumento es una función del número de serie de IA, siendo mayor en vacas repetidoras. Sin embargo, es importante comprender las diferencias entre los lugares, los rebaños, el manejo y los estados fisiológicos que contribuyen a las respuestas diferenciales de fertilidad a los tratamientos con GnRH (Thatcher et al., 1993).

2.4 Mecanismos y factores a través de los cuales la GnRH puede modificar la fertilidad

El tratamiento con GnRH en el momento de la IA puede mejorar la fertilidad de varias maneras. Sin embargo, los mecanismos a través de los cuales la GnRH puede modificar la fertilidad no han sido aclarados (Morgan y Lean, 1993). El tratamiento con GnRH durante el estro puede influir en el tiempo de ovulación, las tasas de fertilización, el desarrollo de CL, la secreción de P4 y la supervivencia embrionaria (Stevenson et al., 1984). GnRH actúa probablemente mediante la liberación de FSH y LH, pero su efecto directo sobre el tracto reproductivo no puede ser ignorado, teniendo en cuenta el hecho de que las moléculas de tipo GnRH se han aislado de los folículos ováricos (Ying et al., 1981). Además, la ovulación puede inducirse en ratas hipofisectomizadas después de la administración de GnRH (Corbin y Bex, 1981).

El hallazgo de que la ovulación puede ser inducida por GnRH (Baker et al., 1973, Seeger y Humke, 1975) condujo a numerosos estudios de sus efectos sobre la fertilidad de las vacas inseminadas artificialmente, ya que uno de los principales factores determinantes del éxito de la cría artificial es el momento adecuado de la inseminación en relación con la ruptura del folículo ovulatorio (Schels y Mostafawi, 1978). Para lograr tasas de preñez satisfactorias, el momento óptimo de la deposición de semen y la ocurrencia de la ovulación es de suma importancia debido a la vida fértil relativamente breve de esperma y óvulo. Además, el momento de la inseminación está bajo el control directo del hombre y no depende de la receptividad sexual del animal. Por lo tanto, la posibilidad de retrasos en la fertilización se incrementa. Se pueden esperar altos índices de concepción sólo si la inseminación tiene lugar 7 a 18 horas antes de la ovulación (Trimberger y Davis, 1943). Esto puede obstaculizarse si no se observa el inicio del estro o si hay variaciones fisiológicas o patológicas de la rotura del folículo y la liberación del óvulo (Schels y Mostafawi, 1978). Se ha sugerido que la ovulación inducida por GnRH puede proporcionar una mayor sincronía entre el momento de la inseminación y el momento de la ovulación (Moller y Fielden, 1981; Stevenson et al., 1988).

Dado que el pico de la GnRH se produce normalmente cerca del inicio del celo (Mori et al., 1974), una inyección de GnRH antes de la IA tendría más probabilidad de corregir una asincronía de reproducción y ovulación que una inyección de GnRH en la IA (Pennigton et al. 1985). Stevenson et al. (1984) sugirieron que las tasas de concepción aumentaron cuando las vacas fueron tratadas en las primeras 5 a 8 horas de estro. Por lo tanto, la exactitud de la detección y el manejo del calor podría influir en la magnitud de la respuesta al tratamiento con GnRH. Los hallazgos de Rosenberg et al. (1991) y Mee et al. (1990) indicaron que el momento de las inyecciones de GnRH cerca de la detección de celo contribuye al éxito del tratamiento con GnRH en las primeras inseminaciones posparto en vacas con bajas tasas de concepción. En las vacas inseminadas de dos a cuatro veces, las inyecciones de GnRH cercanas a la detección de celo debían ser acopladas con inseminaciones 4 a 30 horas después de la detección del celo para obtener un aumento de la fertilidad en oposición a las inseminaciones tempranas, a menos de 3 horas de la detección de celo (Rosenberg et al., 1991). La administración de

GnRH temprano en el celo y la IA 12 a 15 horas más tarde dio mejores resultados que el tratamiento en el momento de la IA, aunque no mejor que en el control (Mee et al., 1990). El papel de la GnRH en alterar indirectamente la tasa o la eficacia de la maduración de ovocitos en vacas de baja fertilidad justifica el estudio (Thatcher et al., 1993).

Se ha estudiado y discutido ampliamente el efecto de la GnRH dada en el celo sobre la subsiguiente concentración de P4 y su posible influencia en la fertilidad a través de este mecanismo. BonDurant et al. (1991) propusieron que la GnRH puede reducir la mortalidad embrionaria temprana mediante el aumento de la luteinización de las células thecal y granulosa a través del incremento de la oleada de LH. El aumento subsiguiente de las secreciones de P4 puede mejorar el reconocimiento materno del concepto Maurer y Echterkamp (1982) encontraron que las vacas con aumentos más elevados de LH preovulatorios y un aumento más rápido de P4 después de la ovulación mostraron mayor supervivencia embrionaria. También Lee et al. (1985) y Ullah et al. (1996) propusieron que las tasas de embarazo más altas en vacas inyectadas con GnRH son probablemente el resultado del aumento detectado en la producción de P4 y la supervivencia embrionaria mejorada. Además, Mee et al. (1993) encontraron que los niveles más altos de P4 se debían a una mayor proporción de grandes células lúteas en el CL y posiblemente debido al aumento de la concentración y la frecuencia de pulso de la secreción de FSH. Sin embargo, Lewis y col. Lucy y Stevenson (1986) encontraron que la inyección de GnRH durante el poliestro, poco antes o simultáneamente con el aumento preovulatorio de la LH, atenuó las concentraciones subsiguientes de progesterona en el suero durante los primeros 7 días del ciclo estral en vacas repetidoras. Basándose en este hallazgo, concluyeron que la fertilidad mejorada detectada en su estudio puede estar asociada con el retraso o aumento lento de las concentraciones de P4 después de la ovulación. A pesar de la naturaleza variable de los resultados, es obvio que la GnRH aumenta la producción de P4, en vista de pocos resultados en sentido contrario.

Basándose en su estudio metaanalítico, Morgan y Lean (1993) concluyeron que el tipo de GnRH (análogo nativo o agonístico) utilizado en el momento de la IA no influía grandemente en el riesgo de la preñez de las vacas en el primer servicio. Ambos grupos tuvieron riesgos relativos muy similares e intervalos de confianza. La dosis de GnRH puede influir ligeramente en los resultados, ya que todos los estudios de dosis más altas mostraron un efecto positivo de la fertilidad del tratamiento con GnRH, pero el riesgo relativo de preñez no difirió notablemente del alcanzado con dosis más bajas de GnRH.

Hay muchas otras fuentes de variaciones considerables en los resultados de los experimentos que estudian el efecto de la GnRH administrada en la IA sobre la tasa de preñez, y no casi todos ellos han sido aclarados. También se ha propuesto como factores que contribuyen a la variación de los resultados la ubicación geográfica, el estado fisiológico de las vacas, la raza del ganado, la nutrición, el manejo de los rebaños y la fertilidad general del rebaño (Morgan y Lean, 1993). BonDurant et al. (1991) atribuyeron parte del resultado positivo en su estudio a una mejora en las prácticas de manejo en las fincas involucradas en el experimento. Las respuestas más positivas al tratamiento se registraron en el

ganado que tuvo una alta producción diaria de leche en el momento de la IA (> 25 kg, Grünert et al., 1978, > 30 kg, Goldbeck, 1976), pero en contra de esto Holtemöller) Y Nakao et al. (1983) detectaron la mejor respuesta en el nivel medio (20 a 25 kg y 25 a 30 kg, respectivamente) y ninguna respuesta en el nivel más alto (> 25 kg y > 30 kg, respectivamente).

Lee et al. (1983) no encontraron efecto alguno en la producción de leche. Además, el efecto de la duración del tiempo de parto a la primera AI ha sido inconsistente. El mejor efecto del tratamiento se ha encontrado en el ganado apareado relativamente temprano, de 4 a 6 semanas, después del parto (Grünert et al., 1978; Goldbeck, 1976). Sin embargo, Nakao et al. (1983) observaron una mayor respuesta al tratamiento cuando las vacas fueron apareadas después de 101 días después del parto, y Moller y Fielden (1981), Lee et al. (1983) y Chenault (1990) no detectaron ninguna influencia. Las vacas jóvenes (paridad 1 a 2 o 3) parecen beneficiarse más del tratamiento con GnRH que las vacas mayores (Grünert et al., 1978, Holtemöller, 1981, Nakao et al., 1983). Sin embargo, no se ha detectado ningún efecto en las vaquillas, probablemente debido al hecho de que no están expuestas al tipo de demandas fisiológicas y cambios en las vacas lactantes (Lee et al., 1983). Se ha propuesto que la fertilidad global del rebaño tiene un gran impacto en el efecto del tratamiento con GnRH. Coleman et al. (1988) han resumido que el tratamiento con GnRH en la IA podría ser más beneficioso en los rebaños con tasas de concepción por debajo del promedio o en vacas identificadas de baja fertilidad en comparación con los rebaños o vacas de fertilidad promedio o superior a la media. La mejor respuesta a los tratamientos con GnRH observados en vacas repetidoras puede explicarse por este hecho, ya que la fertilidad de estas vacas es generalmente baja. En los estudios resumidos, las tasas de preñez inicial de las poblaciones del estudio, las vacas repetidoras, fueron inferiores al 50% en 14 de 18 ensayos e incluso inferior al 40% en 7 ensayos.

2.5 Posibles efectos negativos de la GnRH administrada durante el perioestro

Aunque el efecto del tratamiento con GnRH dado en el momento de la IA sobre la tasa de preñez ha sido principalmente positivo al menos numéricamente, diez de 55 ensayos (o subgrupos de ensayos) mostraron una menor tasa de preñez en animales tratados que en animales control. Aunque la disminución fue generalmente pequeña, dos estudios mostraron un efecto negativo significativo de la GnRH sobre la tasa de embarazo (Mee et al., 1990; Chenault, 1990). En Mee et al. (1990), donde se estudió tanto el momento del tratamiento con GnRH como el momento de la IA (temprano / tardío después del primer celo detectado), sólo se encontró que los tratamientos de GnRH temprano en el celo e IA tardía en el celo restablecían las tasas de preñez a los valores de control. En los otros grupos, las tasas de preñez fueron menores que en el grupo control. Los autores concluyeron que este contraste de tratamiento ilustra un efecto inhibitorio de la GnRH sobre las tasas de preñez, basándose en su sincronización con relación al comienzo del estro a la aparición de la oleada preovulatoria de gonadotropinas.

Cuando se utilizó el tratamiento con GnRH en combinación con la inducción del celo mediante el tratamiento con PG, se detectó alguna evidencia de posibles efectos negativos de la GnRH en la función luteal posterior o en la fertilidad. Stevens et al. (1993) administraron GnRH simultáneamente con PG al día 8 o 10 del ciclo estral. Las vacas que ovularon prematuramente (día 8: 4/8, día 10: 1/8) no lograron desarrollar y mantener un CL completamente funcional, y todas regresaron al estro 7 a 13 días después de la ovulación inducida. Además, Schmitt et al. (1996) informaron una tasa de preñez significativamente menor después de la IA cronometrada después de GnRH, cuando se inyectó GnRH 24 h después de la PG, en comparación con la IA en el celo detectado después de PG. No se encontró ninguna diferencia cuando se administró GnRH 48 h después de PG. A pesar de la investigación intensiva sobre los efectos de la GnRH, muy pocos estudios han sido publicados sobre los tratamientos con GnRH administrados durante los primeros días después de la ovulación en el ganado. Macmillan et al. (1986) informaron una reducción en la tasa de embarazo en unidades de 10,9% cuando se administró buserelina (5 µg) 1 a 3 días después de la inseminación. Ford y Stormshak (1978) encontraron concentraciones de P4 significativamente reducidas cuando se administró GnRH nativo (100 µg) 55 h después de la detección del estro. Más tarde, Rodger y Stormshak (1986) y Martin et al. (1990) estudiaron la influencia de la GnRH nativa (100 µg) administrada el día 2 posterior al estro (día de estro = día 0) en la función luteal posterior. En ambos estudios, se detectó una tendencia a reducir las concentraciones de P4. Se ha demostrado que la pérdida embrionaria temprana probablemente esté asociada con un síndrome endocrino complejo, que podría manifestarse por una menor capacidad para sintetizar y / o liberar CL-progesterona (Lamming et al., 1989). Sin embargo, es cuestionable que la reducción de la fecundidad reportada por Macmillan et al. (1986) puede explicarse por una función lútea alterada, debido a que las razones detrás de la disminución de la concentración de P4 causada por la GnRH dada durante el 18etaestro aún no se conocen.

III OBJETIVOS

General

- a) Evaluar la utilización de GnRH en vacas lecheras con diferentes condiciones reproductivas

Específicos

- a) Aplicar 100 µg de GnRH al momento de la IA en vacas de primer servicio
- b) Conocer el efecto de la GnRH sobre la función lutea en vacas lecheras el porcentaje de gestación.

IV Hipótesis

- a) Si la aplicación de GnRH en vacas lecheras al momento de la IA favorece el desarrollo del CL, entonces aumentara la producción de progesterona y habrá un mayor porcentaje de concepción en las vacas tratadas
- b) Si aplicamos 100 µg de GnRH al momento de la IA entonces obtendremos un porcentaje de gestación mayor que el grupo sin tratamiento.

Justificación

Indiscutiblemente, la falla en la concepción en la vaca lechera se asocia con su condición metabólica, prueba de ello son las vaquillas, las cuales al no entrar en esa dinámica metabólica han mantenido su alta fertilidad. Aunque se tienen pruebas de que el balance energético negativo afecta la función del cuerpo lúteo. Los estudios en los que se ha inyectado GnRH al momento de la inseminación también son variables; aunque los resultados globales indican que sí se mejora la fertilidad. El periodo en el que ocurre el reconocimiento materno de la gestación es crítico para la sobrevivencia embrionaria. También es importante mencionar que se han descrito un aumento en el porcentaje de gestación cuando existe un Cuerpo Lúteo (CL) de mayor tamaño y este se convierte en CL de gestación.

V. MATERIAL Y METODOS

Localización del estudio

Este trabajo se llevó a cabo en la Junta Auxiliar de Santa Rosa, una comunidad perteneciente al distrito de Tecamachalco, que es una de los 15 municipios los cuales están al sur de estado de Puebla, ubicado a los 18° 53" altitud norte, 97° 44" longitud oeste y a 2020 metros sobre el nivel del mar con clima A (w) templado subhúmedo con veranos calurosos (Gobierno del Estado de Puebla, 2012).

Metodología

Los tratamientos se iniciaron con vacas en diferentes estados reproductivos, que presentes celo y que sea a primer servicio después del parto, previamente revisadas y clínicamente sanas. Al Grupo I (100 vacas) se les aplicó 100 µg de GnRH (sanfer). El Grupo II (100 vacas) se trataron con un placebo al momento de inseminar. Con el siguiente protocolo con se indica en el cuadro de abajo.

Grupo I Tratamiento

		GnRH			registro	40-50 días	90 días
Parto	servicios	1	2	3	retorno estro Dx		Gestación
	regestar						
		Servicios					

Grupo II Control

		Placebo			registro	40-50 días	90 días
Parto	servicios	1	2	3	retorno estro Dx		Gestación
	regestar						
		Servicios					

5.4 Exámenes ováricos y diagnóstico de gestación

En el Estudio los ovarios fueron palpados por recto para determinar la existencia de un folículo durante el estro con la finalidad de comprobar la existencia del folículo, sin embargo no se consideró como variable a evaluar.

El diagnóstico de gestación se realizó por palpación a los 40 a 50 días después de haber sido inseminadas, considerando los hallazgos más confiables (Asimetría uterina, membranas fetales deslizables, vesícula amniótica y tamaño del CL). La revisión de los ovarios para determinar el tamaño del CL y el porcentaje de gestación lo realizó la misma persona.

5.5 Variables registradas

- a) Condición Corporal (C.C.)
- b) Presencia y tamaño del CL
- c) Porcentaje de vacas gestantes
- d) Porcentaje de vacas vacías
- e) Número de parto
- f) Número de servicio
- g) Tipo de parto (distócico, gemelar, fetos macerados, fetos momificados)
- h) Puerperio (retención placentaria, metritis, Piometra, quistes, ooforitis, ooforitis)

5.6 Diseño Experimental

Se utilizará un Diseño Completamente al Azar, para la asignación de tratamientos, donde se buscarán obtener los resultados para dar respuesta a los objetivos planteados.

5.7 Análisis de los resultados

Los resultados se analizarán mediante un ANOVA de una vía

5.8 Modelo estadístico

$$Y_{ijkl} = \mu + A_{ij} + B_{kl} + AB_{ijkl} + E_i \dots n$$

Donde Y_{ijkl} es la respuesta esperada

μ = Media general

A_{ij} = Tratamiento A

B_{kl} = Tratamiento B

AB_{ijkl} = Efecto aditivo del tratamiento AB

E_i = Error estándar de la muestra

5.9 Pregunta de Investigación

¿La utilización de GnRH, mejorará el porcentaje de gestación?

VI. RESULTADOS

Los resultados que se obtuvieron tras evaluar el efecto de la GnRH sobre la fertilidad en vacas (al primer servicio después del parto), con diferentes estados reproductivos se presentan en el cuadro 6.1 Durante el estudio se evaluaron 200 vacas, de las cuales 100 fueron tratadas con GnRH (sanfer) y a otras 100 vacas se les administró el placebo. De las variables evaluadas se encontraron diferencias importantes en la condición corporal, el tamaño del cuerpo luteo y el número de servicio. Cabe mencionar que una condición determinante fue que el puerperio se presentó como anormal para todas las vacas de la investigación.

Cuadro 6.1 Parámetros reproductivos de vacas tratadas con GnRH

PARAMETRO REPRODUCTIVO	GnRH	CONTROL
<i>CONDICION CORPORAL</i>	4.13±0.36*	4.02±0.37
<i>TAMAÑO DEL CUERPO LUTEO (cm)</i>	2.44±0.75**	2.22±0.7
<i>% VACAS GESTANTES</i>	79	75
<i>% VACAS VACIAS</i>	21	25
<i>NUMERO DE PARTO</i>	3.22±0.97	3.04±1.20
<i>NUMERO DE SERVICIO</i>	1.82±0.70**	3.63±1.6
<i>TIPO PARTO</i>	1.27±0.44	1.34±0.47

*P<0.05
**P<0.01

En cuanto a la condición corporal de las vacas postratamiento se encontraron diferencias estadísticas significativas, ya que se observó un ligero aumento para este parámetro, en la figura 6.2 se muestra más a detalle de esta información.

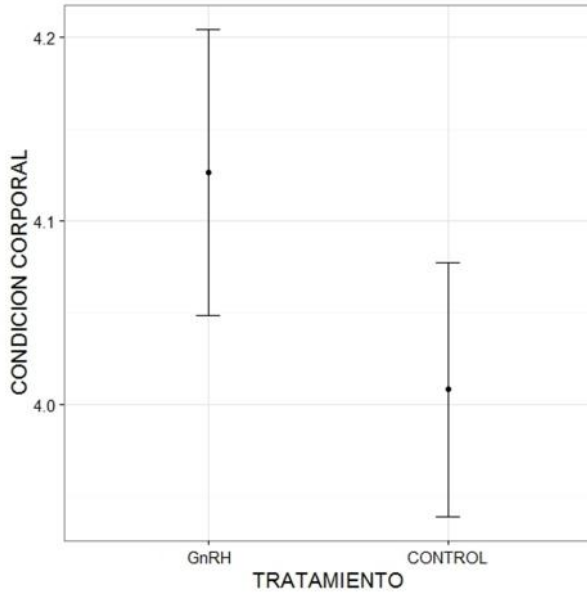


Figura 6.2 Grafica de distribución de “*t*” en donde se presentan los datos de la mediana en los puntos centrales de la línea y la distribución de los datos a lo largo de la línea, se noto un incremento en la condición corporal después de administrar la GnRH.

Otro parámetro reproductivo en el que se encontraron diferencias estadísticamente significativas fue en el tamaño del cuerpo luteo ya que las vacas que recibieron el tratamiento con GnRH presentaron un desarrollo del cuerpo luteo mayor que las vacas control, los datos mejor descritos se pueden observar en la Figura 6.3.

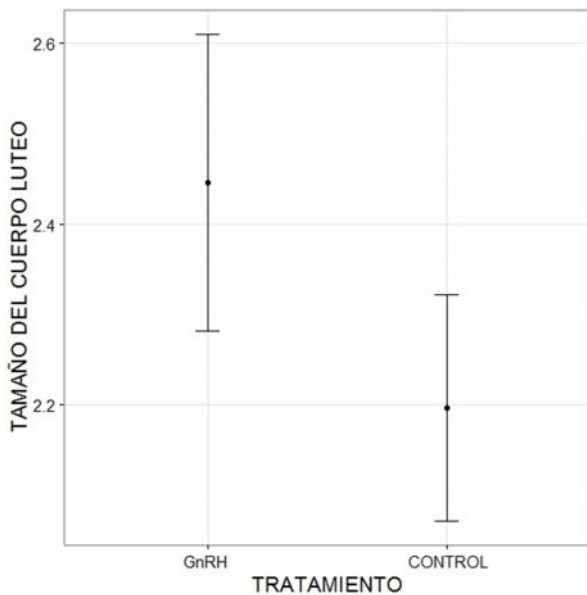
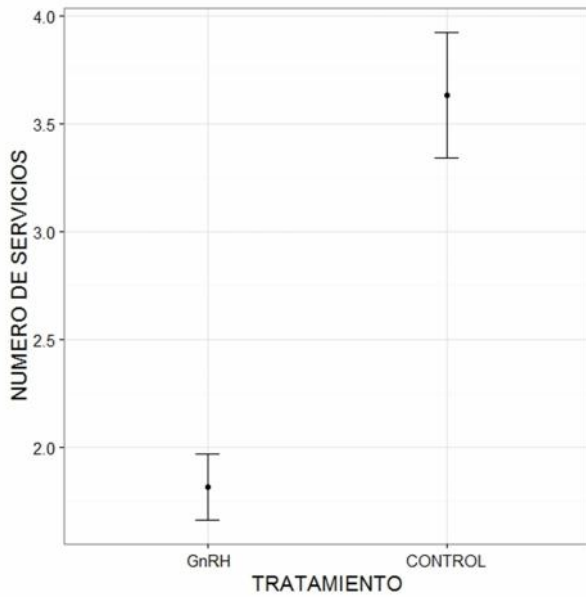


Figura 6.3 Grafica de distribución de “*t*” en donde se presentan los datos del tamaño del cuerpo luteo (cm), se observa claramente la diferencia en cuanto al incremento del tamaño del grupo tratado con GnRH en comparación con el grupo control.

El número de servicios fue un parámetro que tuvo una modificación importante después de la administración de la GnRH ya que en las vacas tratadas disminuyó el número de veces que se necesitaban inseminar para quedar gestantes comparado con el grupo control. Cabe mencionar que el número de servicios tuvo relación inversa con el tamaño del cuerpo luteo, ya que a mayor tamaño del cuerpo luteo, el número de servicios se redujo. En la Figura 6.4, se presenta esta



información.

Figura 6.4 Grafica de distribución de “t”, se presentan la información referente al numero de servicios por concepción, se observa claramente la diferencia en cuanto a la disminución del numero de servicios para el grupo tratado con GnRH en comparación con el grupo control.

En relación a los resultados obtenidos en este estudio fueron para evaluar la fertilidad, con diferente número de partos (3.14 en promedio). Durante el estudio se reunieron 200 vacas con diferentes condiciones reproductivas, en provincia cuya característica es la producción familiar, de las cuales 100 fueron tratadas con GnRH y 100 no recibieron tratamiento llamados controles. En el cuadro 6.5, se describen las variables que se estudiaron en vacas Holstein. Las vacas en experimento contaban con una Condición Corporal al momento de la Inseminación Artificial con **4.13±0.36** vs **4.02±0.37** ($p < 0.05$). Una variable importante que fue evaluada el tamaño del Cuerpo Lúteo al momento de la Inseminación Artificial siendo **2.44±0.75** cm de diámetro para vacas tratadas con GnRH vs **2.2±0.7** cm ($p < 0.01$) de diámetro para vacas sin GnRH. Respecto al porcentaje de gestación para el grupo control (sin GnRH) fue de **75%** vs **79%** para vacas tratadas con GnRH, por tanto las vacas vacías fueron 25% control vs 21% vacas tratadas. Respecto al número de partos se encontró que el promedio para vacas sin GnRH fue de **3.04±0.1.2** vs **3.22±0.97** para vacas con GnRH ($P > 0.05$), considerando número de servicios se observó que en el total de las vacas en estudio tenían **3.63±1.6** servicios en vacas tratadas con GnRH y **1.82±0.7** servicios para las vacas no tratadas **GnRH** en promedio ($p < 0.01$), tipo de parto se encontró que el

69.5 % de la vacas tratadas con GnRH tuvieron parto normal y el **73.6 %** con parto normal para vacas no tratadas no hubo ($P>0.05$). El tipo de puerperio fue de **56 %** presentaron Útero Normal en vacas con GnRH y **63 %** Útero Normal en vacas sin GnRH ($P>0.05$).

Cuadro 6.5 Variables estudiadas y porcentaje de vacas gestantes tratadas con GnRH

INDICADOR	GnRH (N= 117)	SIN GnRH (N=83)
CONDICION CORPORAL	4.13±0.36	4.02±0.37
TAMAÑO MEDIO CL	2.44±0.75	2.22±0.7
% GESTACION	79 %	75 %
No. PARTO	3.2±0.9	3±1.2
TIPO PARTO	69.5 % NORMAL	73.6 % NORMAL
TIPO PUERPERIO	56% NORMAL	63% NORMAL
No. SERVICIO	1.82±0.7	3.63±1.6

VII. DISCUSIÓN

Este trabajo que se realizó en ganadería familiar, se tuvo una muestra de 200 vacas leches Holstein Friesan, de las cuales 117 fueron tratadas con GnRH y 83 no recibieron tratamiento o llamados controles.

7.1 Condición Corporal (CC)

La Condición corporal fue de **4.13±0.36** para vacas con GnRH y **4.02±0.37** para vacas sin GnRH ($P<0.05$), encontrándose ligeramente más pesadas no logrando los parámetros normales en vacas Holstein con más de 200 Días En Leche, como lo menciona Méndez et al., (2014) y Dobson et al., (2007), donde anotan que vacas con más 270 DEL deben de tener una CC de 3.5, las vacas de este estudio han permanecido mucho tiempo sin gestarse (285 días) han superado desde hace meses el Balance Energético Negativo.

7.2 Tamaño del Cuerpo Lúteo (CL).

Una variable importante que fue evaluada el tamaño del Cuerpo Lúteo al momento de la Inseminación Artificial siendo 2.44 ± 0.75 cm de diámetro para vacas tratadas con GnRH vs 2.22 ± 0.7 cm de diámetro para vacas sin GnRH ($p < 0.1$) Santos et al., (2004) sugiere que el mantenimiento adecuado del CL previene la muerte embrionaria en los primeros días de la gestación dando facilidad al embrión de producir proteínas entre las que incluye btp-1, además produce una adaptación por parte del útero, que con la participación de factores de crecimiento insulinoideos-1 (IGF-1). Por otro lado Frike et al., (1992), señalan que cuando se habla de la calidad del CL, se refiere a que un CL de buena a excelente calidad debe secretar arriba de 1, 2, 3 ng P4/mL de suero o plasma, para que sea considerado com un CL funcional capaz de establecer una gestación.

7.3 Porcentaje de Gestación

Está determinado por la tasa de fertilización y la sobrevivencia embrionaria, en la vaca lechera se fertilizan entre el 80 y 90% de los ovocitos pero 45 d después solo quedan el 30% de las vacas gestantes (Sreenan et al 2001).en este estudio el Porcentaje de Gestación, una de las variables más importantes fue el número de vacas gestantes que representa en porcentaje el 79% de vacas gestantes con GnRH y del 75 % de vacas gestantes sin GnRH. El porcentaje de preñez al primer servicio es un factor importante que determina la fertilidad del hato. Un porcentaje óptimo es de 60 a 65% (Brito 1992) y es un problema cuando es menor a 45% (Hincapié y Campo 2002).

La aplicación de GnRH al momento de la inseminación artificial resultó en un mayor porcentaje de preñez ($P < 0.05$) que el control (Cuadro 2). Estos resultados difieren con los encontrados por Diskin (1996; citado por Miltbanck s.f.) quien obtuvo un 30% de preñez aplicando GnRH al momento de la Inseminación Artificial.

Valks (1999) indica que es en el inicio de la etapa del estro cuando mejor funciona la aplicación de GnRH, pues ayuda ante una baja secreción de LH y debido a que a nivel de campo no se conoce exactamente cuando comienza el estro en una

vaca, es preferible aplicar la hormona horas antes de la inseminación; por el contrario Córdova (1993) recomienda que los mejores resultados de preñez se han obtenido aplicando la GnRH al momento de la IA, incrementándose el porcentaje de preñez entre el 5 y 10%, sin embargo, bajos las condiciones de esta investigación se obtuvo incrementos superiores al 35% al primer servicio.

7.4 Número de partos

Al respecto se encontró que el promedio para vacas tratadas con GnRH fue de **3.22±0.97** vs **3.04±1.2** para vacas sin GnRH ($P>0.05$), estos resultados son superiores a los encontrados por Hernández-Barreto (2011), quien reporta 2.6 partos por vaca en promedio, con lactancias de 427 días o más (Ajili, et al., 2007). Con estos antecedentes reproductivos se buscaron alternativas como es el uso de la Somatotropina Recombinante Bovina (bST) que mejoren la eficiencia reproductiva y por ende tener un parto por hembra por año y un pico de lactación. Es este trabajo se consideraron algunas variables que dieran respuesta a los objetivos planteados, considerando que la mayoría de vacas en estudio tenían arriba de 3 servicios al momento del tratamiento esto nos indica que al sumar los días de espera voluntaria (60 días) y/o según la política del rancho puesto que en algunas unidades de producción utilizan la siguiente fórmula pudiera aplicarse según el número de litros producidos multiplicados por dos, por ejemplo una vaca produce 40 litros de leche el primer servicio posparto será después del día 80, lo que representa un atraso para el próximo parto y por tanto un periodo interpartos más allá de lo ideal que sería arriba de los 561 días es decir (60 PEV+225 y/o 229 DEL+272 GEST), o sea 18.7 meses de intervalo entre partos siendo lo ideal 12.5 o 13 meses, esto representa una pérdida en manejo, en comida, en eficiencia reproductiva y en pérdidas económicas.

7.5 Número de Servicios

Considerando Número de Servicios se observó que en el total de las vacas en estudio tenían **1.82±0.7** servicios en vacas tratadas con GnRH y **3.63±1.6** servicios para las vacas no tratadas ($p<01$) en promedio por vaca por lo que se

clasifican como vacas repetidoras (Hernández, CJ 2012). Estos indicadores permitieron clasificar a las hembras e incluirlas en el estudio, siendo que los parámetros reproductivos ideales marcan que en tres servicios se deben alcanzar arriba del 95% de gestaciones, buscando lo ideal del 50% de gestaciones a primer servicio y del 60% en vacas de primer servicio (Hernández CJ, 2012 y Méndez et al., 2014).

Las diferencias encontradas fueron significativas ($P < 0.05$) siendo el tratamiento con GnRH el que obtuvo el menor número de servicios por concepción (Figura 6.4), sin embargo, ambos tratamientos presentan valores óptimos tomando en cuenta los rangos sugeridos por Brito (1992) entre 1.6 a 2.0 y Hincapié y Campo (2002) de menos de 1.7 S/C.

Hubo diferencia ($P < 0.05$) entre los tratamientos siendo el grupo con GnRH el que presentó los mejores resultados (Figura 6.4). Los resultados de esta investigación son similares con los obtenidos por Espinal y Cedeño (2009) quienes aplicaron 100 μ g de GnRH en ganado de carne al momento de la inseminación y obtuvieron valores de SCTV de 1.12 y 1.88 retirando los implantes al día 8 o 9 respectivamente; sin embargo, estos resultados superan a los obtenidos por Barahona y Menjivar (2009) quienes trabajando con ganado de carne, realizando IATF con la aplicación de 100 μ g de GnRH al momento del servicio y retirando los implantes al día 8 o 10 obtuvieron un SCTV de 3 y 2.5 respectivamente. Por otra parte superan a los valores sugeridos por González (2001) de 2.5 a 2.7 para ganaderías tropicales.

7.6 Tipo de parto

Se observó durante el trabajo fueron donde se encontró que el **69.5 %** (1.27 ± 0.44) de la vacas tratadas con GnRH tuvieron parto normal y el 73.6 % (1.34 ± 0.47) con parto normal para vacas no tratadas no hubo ($P > 0.05$), esto es mas bajo a lo reportado por De León Cabanas y Pérez Ruiz en el (2012), quienes observaron un 81% de partos normales para vacas multíparas y 78% para vaquillas de primer

servicio, lo que significa que puede tener influencia sobre el número de servicios o servicios por concepción

7.7 El tipo de puerperio

El tipo de puerperio fue de 56 % presentaron Útero Normal en vacas con GnRH y 63 % Útero Normal en vacas sin GnRH ($P > 0.05$). Según la literatura entre el 58 y 93% (Leslie, KE, 1983 y Studer E and Morrow, 1978) de las vacas cursan con infecciones uterinas dos semanas después del parto, pero solo entre 5-9% permanecen infectadas hacia los 45-60 días posparto (Colin-Plamer, 2007). Existen Factores de Riesgo que desencadenan las infecciones uterinas usualmente se producen por vía ascendente.

Durante el parto, las barreras físicas normales a la contaminación (vagina, vestíbulo vaginal y cérvix) están severamente comprometidas y luego del parto hay una gran cantidad de tejido necrótico y fluidos creando un ambiente ideal para la proliferación bacteriana. Las membranas fetales retenidas es el factor más predisponente para la metritis en el bovino (Paisley et al., 1986; Peters and Laven, 1996, Smith and Risco, 2002). La mayoría de los reportes definen al diagnóstico positivo como la retención de las membranas por más de 24 horas luego del parto (Smith and Risco, 2005). La incidencia de la metritis postparto en vacas con RMF puede ser tan alta como 90 % (Montes and Pugh, 1993). Las probabilidades de que una vaca con RMF desarrolle metritis son 6 veces mayores que las de vacas sin RMF, lo cual es mucho más alto que cualquier otro factor de riesgo. La ocurrencia de gestación doble es la mayor causa natural de RMF en bovinos (Smith and Risco, 2002). Los porcentajes de mellizos en Holstein en Estados Unidos han aumentado en los últimos años debido a la selección para aumentar la producción de leche (Kinsel et al., 1998; Wiltbank and Fricke, 2000). Los Factores de riesgo para el desarrollo de metritis. Smith and Risco (2002); Montes and Pugh (1993). Membranas fetales retenidas (6%) Distocia (3%), Ternero nacido muerto (3%), Mellizos (2.3%), Prolapso uterino Fiebre de la leche, Estación del año, Edad, Lugar de parto seco, Cetosis entre otros. Las vacas de alta producción se cree que tienen aumentado el porcentaje de metabolismo de las hormonas tiroideas

debido a un mayor flujo de sangre en el rumen y en el hígado. El estradiol del folículo dominante es metabolizado demasiado rápido y por lo tanto no suprime eficientemente los niveles de la hormona folículo estimulante (FSH). El aumento secundario de la concentración de FSH que ocurre luego de la ovulación es mucho mayor que lo normal permitiendo que se desarrollen folículos auxiliares, maduren y ovulen (Wiltbank and Fricke, 2000). La naturaleza del olor desagradable del RMF, combinado con el riesgo de metritis, a menudo obliga a los veterinarios y a los productores a prevenir o tratar las RMF. Existen muchos métodos diferentes para tratar las RMF, sin embargo, la mayoría no han sido evaluados. Las membranas fetales retenidas solas tienen pocos efectos sobre la fertilidad futura. Los problemas vienen cuando están acompañadas con metritis.

La incidencia de metritis tóxica varía desde 2,2 % a 37,3 % (Meléndez et al., 2004). Las vacas afectadas exhiben diferentes grados de depresión, inapetencia y disminución de la producción de leche y están predispuestas a sufrir desórdenes de abomaso (Overton et al., 2003 y Radostits et al., 2000).

VIII.CONCLUSIÓN

Los estudios en los que se ha inyectado GnRH al momento de la inseminación también son variables; aunque los resultados globales indican que sí se mejora la fertilidad. El periodo en el que ocurre el reconocimiento materno de la gestación es crítico para la sobrevivencia embrionaria. La presencia de un Cuerpo Lúteo de mayor tamaño mejora el porcentaje de gestación. Siendo importante concluir que el número de Servicios por Concepción fue menor cuando se utilizó GnRH.

IX. REFERENCIAS

Alacam E., Tekeli T. & Gökçay Y. (1986) Improvement of conception rate in dairy cows by means of GnRH injections. Selcuk Universitesi Veteriner Fakultesi Desgisi 2:27. Abstr. in Animal Breeding Abstracts 1987; 055-04350.

Albihn A., Shamsuddin M., Qunshan H. & Kindahl H. (1991) Plasma levels of prostaglandin F2 alpha metabolite and progesterone in repeat breeder heifers. Acta Veterinaria Scandinavica 32: 361371.

Archbald L.F., Sumrall D.P., Tran T., Klapstein E., Risco C. & Chavatte P. (1993) Comparison of pregnancy rates of repeat-breeder dairy cows given gonadotropin releasing hormone at or prior to the time of insemination. Theriogenology 39: 1081-1091.

Ayalon N. (1978) A review of embryonic mortality in cattle. Journal of Reproduction and Fertility 54: 483-493.

Ayalon N. (1984) The repeat breeder problem. Proceedings of the Xth International Congress on Animal Reproduction & AI. Illinois, USA. 41-50.

Baker R.D., Downey B.R. & Brinkley H.J. (1973) Induction of ovulation in pigs with gonadotrophin releasing hormone. Journal of Animal Science 37: 1376-1379.

Bartlett P.C., Kirk J.H. & Mather E.C. (1986) Repeated insemination in Michigan Holstein-Friesian cattle: incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. Theriogenology 26: 309-322.

Beattie C.W. (1982) Hypophysiotropic releasing and release-inhibiting hormones. In Zaneveld L.J.D. & Chatterton R.T. (ed.): Biochemistry of mammalian reproduction. John Wiley et sons, New York. 287-296.

Bennett H.P. & McMartin C. (1978) Peptide hormones and their analogues: distribution, clearance from the circulation, and inactivation in vivo. Pharmacological Reviews 30: 247-292.

Bentele W. & Humke R. (1976) [Treatment of delayed Graafian follicle development in cattle by synthetic LH-FSH releasing hormone]. Tierarztliche Umschau 31: 218-224.

Bierschwal C.J., Garverick H.A., Martin C.E., Youngquist R.S., Cantley T.C. & Brown M.D. (1975) Clinical response of dairy cows with ovarian cysts to GnRH. Journal of Animal Science 41: 1660-1665.

BonDurant R.H., Revah I., Franti C., Harman R.J., Hird D., Klingborg D., McCloskey M., Weaver L. & Wilgenberg B. (1991) Effect of gonadotropin-releasing hormone on fertility in repeat-breeder California dairy cows. *Theriogenology* 35: 365-374.

Cantley T.C., Garverick H.A., Bierschwal C.J., Martin C.E. & Youngquist R.S. (1975) Hormonal responses of dairy cows with ovarian cysts to GnRH. *Journal of Animal Science* 41: 1666-1673.

Casida L.E. (1961) Present status of the repeat-breeder cow problem. *Journal of Dairy Science* 44: 2323-2329.

Chenault J.R. (1990) Effect of fertirelin acetate or buserelin on conception rate at first or second insemination in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 73: 633-638.

Chenault J.R., Kratzer D.D., Rzepkowski R.A. & Goodwin M.C. (1990) LH and FSH response of Holstein heifers to fertirelin acetate, gonadorelin and buserelin. *Theriogenology* 34: 81-98.

Christl H.J. (1976) Comparative treatment of ovarian cysts in cows with HCG and gonadotrophin releasing hormone. *Tierärztliche Umschau* 31: 3-7.

Coleman D.A., Bartol F.F., Rahe C.H. & Chenault J.R. (1988) Endocrine and reproductive responses of beef cattle to a synthetic gonadotropin-releasing hormone agonist (fertirelin acetate). *Theriogenology* 30: 149-157.

Colin Palmer. Metritis posparto en vacas lecheras.2007. *Taurus*, 9 (36):20-37.

Conn P.M. & Crowley W.F. Jr. (1991) Gonadotropin-releasing hormone and its analogues. *New England Journal of Medicine* 324: 93-103.

Cooper M.J. (1974) Control of oestrous cycles of heifers with a synthetic prostaglandin analogue. *Veterinary Record* 95: 200-203.

Copelin J.P., Smith M.F., Garverick H.A. & Youngquist R.S. (1987) Effect of the uterus on subnormal luteal function in anestrus beef cows. *Journal of Animal Science* 64: 1506-1511.

Corbin A. & Bex F.J. (1981) Luteinizing hormone releasing hormone agonists induce ovulation in hypophysectomized proestrous rats: direct ovarian effect. *Life Science* 29: 185-192.

De León Cabañas Federico y Paulo Pirez Ruiz. Estudio de las distocia y mortalidad al parto en ganado lechero Uruguayo. Tesis de Doctorado. Paysandú Uruguay. 2012.

Dobson H, Smith R, Royal M, Knigh Ch, Sheldon I. The high producing dairy cows and its reproductive performance. *Reprod Domest Anim* 2007; 42 Suppl. 2:17-23.

Ford S.P. & Stormshak F. (1978) Bovine ovarian and pituitary responses to PMS and GnRH administered during metoestrus. *Journal of Animal Science* 46: 1701-1706.

Garverick H.A., Kesler D.J., Cantley T.C., Elmore G., Youngquist R.S. & Bierschwal C.J. (1976) Hormone response of dairy cows with ovarian cysts after treatment with HCG or GnRH. *Theriogenology* 6: 413-425.

Geiger R., König W., Wissmann H., Geisen K. & Enzmann F. (1971) Synthesis and characterisation of a decapeptide having LH-RH-FSH-RH activity. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 45: 767-773.

Gobierno del Estado de Puebla, Secretaria de Educación Pública, Estadística de inicio de curso 1996-1997 (2012).

Goldbeck U. (1976) Improvement of first-insemination results in cattle with gonadotropin releasing hormone. Diss., Tierärztliche Hochschule, Hannover.

Grünert E., Tholen I. & Goldbeck U. (1978) Influence of synthetic gonadotropin releasing hormone on the effectiveness of artificial insemination in cows. *Blue Book for the Veterinary Profession* 28: 313-317.

Handelsman D.J. & Swerdloff R.S. (1986) Pharmacokinetics of gonadotropin-releasing hormone and its analogs. *Endocrine Reviews* 7: 95-105.

Hernández Barreto, Miguel A, Silveira Prado, Enrique A., Contreras Nápoles, Ángel, Perez Varas, Yonardy, Vallejo García, Jerónimo. Intervalos Interpartales, total de partos y duración de la vida reproductiva en vacas mestizas Siboney de Cuba en una empresa ganadera. *REDVET Rev. Electrón. Vet.* <http://www.veterinaria.org/revista/redvet> 2011 volumen 12 No. 11 <http://www.veterinaria.org/revista/redvet/n111111.html>. ISSN 1695-7504.

Hernández- Cerón J., M.G. Mendoza, S. Morales and C.G. Gutiérrez. A single dose of recombinant bovine somatotrophin improves fertility in dairy cattle. *Reprod. Fétil. Abstract Series*. 2000, 25:Abstr, 140.

Hawk H.W. (1979) Infertility in dairy cattle. In Hawk H.W. (ed.): Beltsville symposia in agricultural research, 3. Animal Reproduction, Allanheld, Osmun, Montclair, NJ, USA, 19-29.

Holtemöller B. von (1981) Use of Buserelin in cattle at the time of first insemination. Tierärztliche Umschau 36: 51-54.

Hunter M.G. (1991) Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. Journal of Reproduction and Fertility, Supplement 43: 91-99.

Huszenicza G., Jánosi S., Kulcsar M., Kóródi P., Dieleman S.J. & Bartyik J. (1998) Gram negative mastitis in early lactation may interfere with ovarian and certain endocrine functions and metabolism in dairy cows. Reproduction in Domestic Animals 33: 147-153.

Kaltenbach C.C., Dunn T.G., Kiser T.E., Corah L.R., Akbar A.M. & Niswender G.D. (1974) Release of FSH and LH in beef heifers by synthetic gonadotrophin releasing hormone. Journal of Animal Science 38: 357-362.

Kask K. (1999) Postpartum reproductive performance in dairy cows under different managemental systems and in cows with induced parturitions. Diss., Swedish Univ. of Agric. Sci., Acta Universitatis Agriculturae Sueciae, Veterinaria 61. Uppsala. 42 p.

Kastelic J.P. & Ginther O.J. (1991) Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. Animal Reproduction Science 26: 13-24.

Kesler D.J., Garverick H.A., Bierschwal C.J., Elmore R.G. & Youngquist R.S. (1979) Reproductive hormones associated with normal and abnormal changes in ovarian follicles in postpartum dairy cows. Journal of Dairy Science 62: 1290-1296.

Kesner J.S., Convey E.M. & Anderson C.R. (1981) Evidence that estradiol induces the preovulatory LH surge in cattle by increasing pituitary sensitivity to LHRH and then increasing LHRH release. Endocrinology 108: 1386-1391.

Kindahl H., Edqvist L.E., Bane A. & Granström E. (1976a) Blood levels of progesterone and 15keto-13,14-dihydro-prostaglandin F2alpha during the normal oestrous cycle and early pregnancy in heifers. Acta Endocrinology 82: 134-149.

Kindahl H., Edqvist L.E., Granström E. & Bane A. (1976b) The release of prostaglandin F2alpha as reflected by 15-keto-13,14-dihydroprostaglandin F2alpha in the peripheral circulation during normal luteolysis in heifers. Prostaglandins 11: 871-878.

Kindahl H., Lindell J.O. & Edqvist L.E. (1979) On the control of prostaglandin release during the bovine estrous cycle. Effects of progesterone implants. *Prostaglandins* 18: 813-820.

Kindahl H., Lindell J.O. & Edqvist L.E. (1981) Release of prostaglandin F2 alpha during the oestrous cycle. *Acta Veterinaria Scandinavica, Supplement* 77: 143-158.

Kinder J.E., Adams T.E., Chakraborty P.K., Tarnavsky G.K. & Reeves J.J. (1975) Serum LH concentrations and ovarian activity in cows with repetitive administration of LH-RH/FSH-RH. *Journal of Animal Science* 41: 1650-1652.

King M.E., Kiracofe G.H., Stevenson J.S. & Schalles R.R. (1982) Effect of stage of estrous cycle on interval to estrus after PGF2 alpha in beef cattle. *Theriogenology* 18: 191-200.

Knopf L., Kastelic J.P., Schallenberger E. & Ginther O.J. (1989) Ovarian follicular dynamics in heifers: test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. *Domestic Animal Endocrinology* 6: 111-119.

Königsson K. (2001) Induced parturition and retained placenta in the cow. Diss., Swedish Univ. of Agric. Sci., *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae, Veterinaria* 106. Uppsala. 36 p.

L'Abbe K.A., Detsky A.S. & O'Rourke K. (1987) Meta-analysis in clinical research. *Annals of Internal Medicine* 107: 224-233.

Lafi S.Q. & Kaneene J.B. (1992) Epidemiological and economic study of the repeat breeder syndrome in Michigan dairy cattle. I. Epidemiological modeling. *Preventive Veterinary Medicine* 14: 87-98.

Lafi S.Q., Kaneene J.B., Black J.R. & Lloyd J.W. (1992) Epidemiological and economic study of the repeat breeder syndrome in Michigan dairy cattle. II. Economic modeling. *Preventive Veterinary Medicine* 14: 99-114.

Lamming G.E., Darwash A.O. & Back H.L. (1989) Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 37: 245-252.

Lee C. N., Maurice E., Ax R.L., Pennington J.A., Hoffman W.F. & Brown M.D. (1983) Efficacy of gonadotropin-releasing hormone administered at the time of artificial insemination of heifers and postpartum and repeat breeder dairy cows. *American Journal of Veterinary Research* 44: 2160-2163.

Lee C.N., Critser J.K. & Ax R.L. (1985) Changes of luteinizing hormone and progesterone for dairy cows after gonadotropin-releasing hormone at first postpartum breeding. *Journal of Dairy Science* 68: 1463-1470.

Leidl W. von, Bostedt H., Lamprecht W., Prinzen R. & Wendt V. (1979) Ovulation control by a GnRH-analogue and HCG at the time of insemination in cows. *Tierärztliche Umschau* 34: 546, 548-550.

Lewis G.S., Caldwell D.W., Rexroad C.E. Jr., Dowlen A.H. & Owen J.R. (1990) Effects of gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin on pregnancy rate in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 73: 66-72.

Lishman A.W. & Inskip E.K. (1991) Deficiencies in luteal function during re-initiation of cyclic breeding activity in cows and in ewes. *South African Journal of Animal Science* 21: 59-75.

Louis T.M., Hafs H.D. & Seguin B.E. (1973) Progesterone, LH, estrus and ovulation after prostaglandin F₂ alpha in heifers. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 143: 152-155.

Lucy M.C. & Stevenson J.S. (1986) Gonadotropin-releasing hormone at estrus: luteinizing hormone, estradiol, and progesterone during the peri-estrous and postinsemination periods in dairy cattle. *Biology of Reproduction* 35: 300-311.

Macmillan K.L. & Henderson H.V. (1984) Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F₂alpha to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 6: 245-254.

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

Martin T.L., Swanson L.V., Appell L.H., Rowe K.E. & Stormshak F. (1990) Response of the bovine corpus luteum to increased secretion of luteinizing hormone induced by exogenous gonadotropin releasing hormone. *Domestic Animal Endocrinology* 7: 27-34.

Maurer R.R. & Echternkamp S.E. (1982) Hormonal asynchrony and embryonic development. *Theriogenology* 17: 11-22.

Mee M.O., Stevenson J.S., Scoby R.K. & Folman Y. (1990) Influence of gonadotropin-releasing hormone and timing of insemination relative to estrus on

pregnancy rates of dairy cattle at first service. *Journal of Dairy Science* 73: 1500-1507.

Mee M.O., Stevenson J.S., Alexander B.M. & Sasser R.G. (1993) Administration of GnRH at estrus influences pregnancy rates, serum concentrations of LH, FSH, estradiol-17beta, pregnancy-specific protein B, and progesterone, proportion of luteal cell types, and in vitro production of progesterone in dairy cows. *Journal of Animal Science* 71: 185-198.

Mellin T.N., O' Shanny W.J. & Busch R.D. (1975) Induction of follicular growth and ovulation in prepuberal heifers and ewes with synthetic gonadotropin releasing hormone. *Theriogenology* 4: 4158.

Moller K. & Fielden E.D. (1981) Pre-mating injection of an analogue of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and pregnancy rates to first insemination. *New Zealand Veterinary Journal* 29: 214-215.

Morgan W.F. & Lean I.J. (1993) Gonadotrophin-releasing hormone treatment in cattle: a metaanalysis of the effects on conception at the time of insemination. *Australian Veterinary Journal* 70: 205-209.

Mori J., Masaki J., Wakabayashi K., Endo T. & Hosoda T. (1974) Serum luteinizing hormone levels in cattle under various reproductive states. *Theriogenology* 1: 131-136.

Nagy P., Solti L., Kulcsar M., Reiczigel J., Huszenicza G., Abavary K. & Wolfling A. (1998) Progesterone determination in equine plasma using different immunoassays. *Acta Veterinaria Hungarica* 46: 501-513.

Nakao T., Narita S., Tanaka K., Hara H., Shirakawa J., Noshiro H., Saga N., Tsunoda N. & Kawata K. (1983) Improvement of first-service pregnancy rate in cows with gonadotropin-releasing hormone analog. *Theriogenology* 20: 111-119.

Nawito M., Schallenberger E. & Schams D. (1977) Release of lutropin (LH) and follitropin (FSH) in cattle after administration of a new gonadoliberin (GnRH) analogue in comparison with the gonadoliberin decapeptide. *Theriogenology* 7: 277-284.

Odde K. G., Ward H.S., Kiracofe G.H., McKee R.M. & Kittok R.J. (1980) Short estrous cycles and associated serum progesterone levels in beef cows. *Theriogenology* 14: 105-112.

Oxender W.D., Noden P.A., Louis T.M. & Hafs H.D. (1974) A review of prostaglandin F2 alpha for ovulation control in cows and mares. *American Journal of Veterinary Research* 35: 997-1001.

Pennington J.A., Hill D.L., Callahan C.J., Brown C.M. & Brown M.D. (1985) Effect of preinsemination injection of gonadotropin-releasing hormone on reproductive performance of dairy cattle. *Bovine Practitioner* 20: 14-16.

Peter A.T., Bosu W.T.K., Liptrap R.M. & Cummings E. (1989) Temporal changes in serum prostaglandin F2alpha and oxytocin in dairy cows with short luteal phases after the first postpartum ovulation. *Theriogenology* 32: 277-284.

Phatak A.P., Whitmore H.L. & Brown M.D. (1986) Effect of gonadotrophin releasing hormone on conception rate in repeat-breeder dairy cows. *Theriogenology* 26: 605-609.

Puschel G. (1974) Insemination results of cows and heifers after treatment with HCG before, during and after insemination. *Tierarztliche Umschau* 29: 332-336.
Quayam S.A. & Austin A.J.S. (1983) Influence of metoestrous bleeding on conception rate in cattle. *Cheiron* 12: 281-282.

Quintal-Franco J.A., Kojima F.N., Melvin E.J., Lindsey B.R., Zanella E., Fike K.E., Wehrman M.E., Clopton D.T. & Kinder J.E. (1999) Corpus luteum development and function in cattle with episodic release of luteinizing hormone pulses inhibited in the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. *Biology Reproduction* 61: 921-926.

Ramirez-Godinez J.A., Kiracofe G.H., McKee R.M., Schalles R.R. & Kittok R.J. (1981) Reducing the incidence of short estrous cycles in beef cows with norgestomet. *Theriogenology* 15: 613-623.

Roche J.F., Mihm M. & Diskin M.G. (1996) Physiology and practice of induction and control of oestrus in cattle. *Proceedings of XIX World Buiatrics Congress, Edinburgh, UK.* 157-163.

Rodger L.D. & Stormshak F. (1986) Gonadotropin-releasing hormone-induced alteration of bovine corpus luteum function. *Biology of Reproduction* 35: 149-156.

Rosenberg M., Chun S.Y., Kaim M., Herz Z. & Folman Y. (1991) The effect of GnRH administered to dairy cows during oestrus on plasma LH and conception in relation to the time of treatment and insemination. *Animal Reproduction Science* 24: 13-24.

Roussel J.D., Beatty J.F. & Koonce K. (1988) Gonadotropin releasing hormone therapy in functional infertility of dairy cattle. *Theriogenology* 30: 1115-1119.

Saalfeld K. & Hollman P. (1976) [Experience with LH-FSH releasing hormone in treatment of ovarian cysts within the framework of artificial insemination of cows]. *Praktische Tierarzt* 57: 728730.

Savio J.D., Keenan L., Boland M.P. & Roche J.F. (1988) Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 83: 663-671.

Schels H.F. & Mostafawi D. (1978) The effect of GnRH on the pregnancy rate of artificially inseminated cows. *Veterinary Record* 103: 31-32.

Schmitt E.J.P., Diaz T., Drost M. & Thatcher W.W. (1996) Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *Journal of Animal Science* 74: 1084-1091.

Seeger K. & Humke R. (1975) LH/FSH releasing hormone in veterinary medicine. *Blue Book for the Veterinary Profession* 25: 156-163.

Seguin B.E. (1997) Strategies for estrus control to improve dairy reproductive performance. *Proceedings for Annual Meeting, Society for Theriogenology*. Montreal, Quebec, Canada. 320-331.

Seguin B.E., Convey E.M. & Oxender W.D. (1976) Effect of gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin on cows with ovarian follicular cysts. *American Journal of Veterinary Research* 37: 153-157.

Shareha A.M., Ward W.R. & Birchall K. (1976) Effect of continuous infusion of gonadotrophinreleasing hormone in ewes at different times of the year. *Journal of Reproduction and Fertility* 46: 331-340.

Sheffel C.E., Pratt B.R., Ferrell W.L. & Inskeep E.K. (1982) Induced corpora lutea in the postpartum beef cow. II. Effects of treatment with progestogen and gonadotropins. *Journal of Animal Science* 54: 830-836.

Siklodi B., Barna-Vetro I. & Solti L. (1995) Latent immunization to produce high-affinity monoclonal antibodies to progesterone. *Hybridoma* 14: 79-84.

Sirois J. & Fortune J.E. (1988) Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biology of Reproduction* 39: 308-317.

Stellflug J.N., Louis T.M., Hafs H.D. & Seguin B.E. (1975) Luteolysis, estrus and ovulation, and blood prostaglandin F after intramuscular administration of 15, 30 or 60 mg prostaglandin F2 alpha. *Prostaglandins* 9: 609-615.

Stevens R.D., Seguin B.E. & Momont H.W. (1993) Simultaneous injection of PGF2alpha and GnRH into diestrous dairy cows delays return to estrus. *Theriogenology* 39: 373-380.

Stevenson J.S., Schmidt M.K. & Call E.P. (1984) Gonadotropin-releasing hormone and conception in Holsteins. *Journal of Dairy Science* 67: 140-145.

Stevenson J.S., Frantz K.D. & Call E.P. (1988) Conception rates in repeat-breeders and dairy cattle with unobserved estrus after prostaglandin F2 alpha and gonadotropin-releasing hormone. *Theriogenology* 29: 451-460.

Stevenson J.S., Call E.P., Scoby R.K. & Phatak A.P. (1990) Double insemination and gonadotropin-releasing hormone treatment of repeat-breeding dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 73: 1766-1772.

Swanson L.V. & Young A.J. (1990) Failure of gonadotropin-releasing hormone or human chorionic gonadotropin to enhance the fertility of repeat-breeder cows when administered at the time of insemination. *Theriogenology* 34: 955-963.

Thatcher W.W. & Chenault J.R. (1976) Reproductive physiological responses of cattle to exogenous prostaglandin F2 alpha. *Journal of Dairy Science* 59: 1366-1375.

Thatcher W.W., Drost M., Savio J.D., Macmillan K.L., Entwistle K.W., Schmitt E.J., de la Sota R.L. & Morris G.R. (1993) New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Animal Reproduction Science* 33: 27-49.

Trimberger, G.V. & Davis G.K. (1943) The relationship between time of insemination and breeding efficiency in dairy cattle. University of Nebraska Agricultural Experiment Station Research Bulletin 129.

Trimberger, G.W. (1948) Breeding efficiency in dairy cattle from artificial insemination at various intervals before and after ovulation. University of Nebraska Agricultural Experiment Station Research Bulletin 153.

Ullah G., Fuquay J.W., Keawkhong T., Clark B.L., Pogue D.E. & Murphey E.J. (1996) Effect of gonadotropin-releasing hormone at estrus on subsequent luteal function and fertility in lactating Holsteins during heat stress. *Journal of Dairy Science* 79: 1950-1953.

Vahdat, F. & Whitmore, H.L. (1980) Effect of gonadotrophin-releasing hormone treatment on pregnancy rate in cattle. Proceedings for 2nd Annual Meeting, Society for Theriogenology. 211-218.

Valks M. (1996) Factors influencing the benefits of GnRH on the day of insemination. Cattle Practice 4: 311-316.

Vamerzani A.A., Dubey B.M. & Arneja D.V. (1999) Clinical response of normal and repeat breeder crossbred cows to receptal therapy. International Journal of Animal Sciences 14: 113-116.

Weaver L.D., Daley C.A. & Goodger W.J. (1988) Economic modeling of the use of gonadotropinreleasing hormone at insemination to improve fertility in dairy cows. Journal of American Veterinary Medical Association 192: 1714-1719.

Wiltbank M.C. (1997) How information on hormonal regulation of the ovary has improved understanding of timed breeding programs. Proceedings for Annual Meeting, Society for Theriogenology, Montreal, Quebec, Canada, 83-97

Wiltbank M.C., Shiao T.F., Bergfelt D.R. & Ginther O.J. (1995) Prostaglandin F2alpha receptors in the early bovine corpus luteum. Biology of Reproduction 52: 74-78.

Wishart D.F. (1974) Synchronization of oestrus in cattle using a potent progestin (SC 21009) and PGF2 alpha. Theriogenology 1: 87-90.

Ying S.Y., Ling N., Bohlen P. & Guillemin R. (1981) Gonadocrinins: peptides in ovarian follicular fluid stimulating the secretion of pituitary gonadotropins. Endocrinology 108: 1206-1215.

Zarco L., Stabenfeldt G.H., Kindahl H., Quirke J.F. & Granström E. (1984) Persistence of luteal activity in the non-pregnant ewe. Animal Reproduction Science 7: 245-267.

Zemjanis R. (1980) "Repeat-breeding" or conception failure in cattle. In Morrow D.A. (ed.): Current Therapy in Theriogenology. WB Saunders. Philadelphia, USA. 205-213.

Zollers W.G. Jr., Garverick H.A. & Smith M.F. (1989) Oxytocin-induced release of prostaglandin F2alpha in postpartum beef cows: comparison of short versus normal luteal phases. Biology of Reproduction 41: 262-267.

Zollers W.G. Jr., Garverick H.A., Smith M.F., Moffatt R.J., Salfen B.E. & Youngquist R.S. (1993) Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in

endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrous cycle. *Journal of Reproduction and Fertility* 97: 329-337.

Zolman J., Convey E.M. & Britt J.H. (1974) Relationships between the luteinizing hormone response to gonadotropin releasing hormone and endogenous steroids. *Journal of Animal Science* 39: 355-359.