



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EFFECTO DE UN ANALOGO SINTETICO DE LA HORMONA
LIBERADORA DE GONADOTROPINAS APLICADA EN EL
DIA 13 POST INSEMINACION SOBRE LA FERTILIDAD Y
LA FUNCION LUTEA DE VAQUILLAS HOLSTEIN
REPETIDORAS DE ESTRO.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

ROSA MARIA SANCHEZ ALBARRAN

Asesores: M.V.Z. Antonio Porras Almeraya
M.V.Z. Victor Lima Tamayo
M.V.Z. Eduardo Posadas Manzano



MEXICO, D. F.

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	PAGINA
I. INTRODUCCION	1
II. MATERIAL Y METODOS.	9
2.1. Localización.	9
2.2. Manejo y selección de los animales.	9
2.2.1. Estudio retrospectivo.	10
2.2.2. Estudio experimental.	10
III. RESULTADOS.	13
3.1. Estudio retrospectivo.	13
3.2. Estudio experimental.	14
IV. DISCUSION.	18
V. LITERATURA CITADA.	24

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

CUADRO

PAGINA

1	PORCENTAJES DE CONCEPCION A DIFERENTE NUMERO DE SERVICIO EN LAS VAQUILLAS DEL CENTRO DE RECRIA DEL COMPLEJO AGROPECUARIO DE TIZAYUCA, HIDALGO (MARZO DE 1982 A 1990).	13
2	PORCENTAJE DE VAQUILLAS REPETIDORAS EN EL CENTRO DE RECRIA DE TIZAYUCA HIDALGO (1988-1990).	14
3	INDICES DE CONCEPCION DE VAQUILLAS REPETIDORAS TRATADAS CON UN ANALOGO DE LA HORMONA LIBERADORA DE GONADO-TROPINAS AL DIA 13 POST- INSEMINACION ARTIFICIAL.	15
4	NIVELES PLASMATICOS PROMEDIO DE PROGESTERONA EN VAQUILLAS HOLSTEIN REPETIDORAS TRATADAS CON UN ANALOGO DE LA HORMONA LIBERADORA DE LAS GONADOTROPINAS AL DIA 13 POST INSEMINACION ARTIFICIAL (NG/ML).	16

FIGURA

1	CONCENTRACION DE PROGESTERONA SERICA DE VAQUILLAS REPETIDORAS GESTANTES Y VACIAS TRATADAS CON GnRH EL DIA 13 POST I.A.	18
2	CONCENTRACION DE PROGESTERONA SERICA DE VAQUILLAS REPETIDORAS GESTANTES TRATADAS CON GnRH EL DIA 13 POST INSEMINACION.	19
3	CONCENTRACION DE PROGESTERONA SERICA DE VAQUILLAS REPETIDORAS VACIAS TRATADAS CON GnRH EL DIA 13 POST INSEMINACION.	20

RESUMEN.

SANCHEZ ALBARRAN, ROSA MARIA. Efecto de un análogo sintético de la hormona liberadora de Gonadotropinas aplicada en el día 13 postinseminación sobre la fertilidad y la función lútea de vaquillas Holstein repetidoras de estro (Bajo la asesoría del MVZ. Antonio Porras Almeraya, MVZ. Víctor Lima Tamayo y MVZ. Eduardo Posadas Manzano).

Se emplearon 81 vaquillas repetidoras del Centro de Recría del Complejo Agropecuario e Industrial de la cuenca lechera de Tizayuca, Hgo. (CAITSA). Un grupo de 40 vaquillas (Grupo tratado) recibió una inyección de 250 µg de un análogo * de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) 13 días después de la inseminación artificial. El grupo testigo incluyó 41 vaquillas a quienes se les aplicó un placebo en el mismo día. Se determinaron los niveles plasmáticos de progesterona en 20 vaquillas de cada grupo, las cuales se muestrearon a partir del día 10 al 21 postinseminación. Mediante un estudio retrospectivo se estimó la incidencia de vaquillas repetidoras con tres o más servicios. Dicha incidencia encontrada en este Centro fue del 28.4 % ; el índice de concepción global promedio fue del 47.7 % , mientras que el obtenido en el presente experimento fue del 55.5 %. El índice de concepción obtenido para el grupo tratado fue del 57.5% en tanto que para el grupo testigo fue de 53.6% , no encontrándose diferencia estadística entre ambos índices ($p > 0.05$).

* (Fertagyl/Intervet).

Se concluye, que el empleo del análogo sintético de GnRH al día 13 postinseminación, no logró incrementar en forma significativa el índice de concepción promedio de las vaquillas repetidoras del Centro de Recría.

I. INTRODUCCION

El éxito en las explotaciones lecheras depende en gran parte de sus resultados reproductivos. Las condiciones económicas actuales motivan a los propietarios de hatos lecheros a reducir los costos de producción, procurando incrementar la eficiencia reproductiva del hato (1,2,3,25,79). Entre los factores que determinan dicha eficiencia están: El lograr que las vaquillas alcancen la pubertad y su primer parto a una edad temprana así como buscar un corto intervalo entre partos, para lo cual es necesario que las vacas queden gestantes lo más rápido posible después de la pubertad ó del parto (8,15,57,58,89).

En México, el 58% de vacas adultas son desechadas por infertilidad y hasta un 82% en el caso de vaquillas (34,79).

Uno de los principales problemas en los hatos lecheros lo constituyen aquellos animales con baja fertilidad, tal es el caso de los que se agrupan dentro del "síndrome de la vaca repetidora". Se considera como vaca o vaquilla repetidora a aquella hembra que presenta ciclos estrales normales, sin trastornos clínicos aparentes y que no ha concebido después de tres o más servicios consecutivos (4,5,8,38,91). Estos animales causan un decremento en la tasa de concepción del hato y con ello un incremento en el número de servicios por concepción (16,38).

La incidencia del síndrome de la vaca repetidora se ubica en un rango del 5 al 15.1% (8,15,59,91). En nuestro país se ha

estimado un 17 % de incidencia en vaquillas Holstein de reemplazo (33).

Las causas del síndrome de la hembra repetidora, han sido consideradas en dos grandes grupos, aquellas que provocan: Fallas en la fertilización y las que ocasionan muerte embrionaria temprana (4,15,46). Se ha encontrado que tanto en vacas como en vaquillas repetidoras las fallas en la fertilización y en la sobrevivencia embrionaria hasta los 35 días post-inseminación artificial (I.A.), son 2 ó 4 veces más altas que en hembras normales (5,47,77,78).

Las fallas en la fertilización pueden ocurrir por: Anormalidades congénitas del aparato reproductivo (71), anormalidades anatómicas adquiridas (adherencias ováricas, oophoritis, ovarios quísticos, disfunción en oviductos, fibrosis uterina, endometritis, cervicitis, etc. (5,15,23,91), fallas ovulatorias (11,46,56,71) y alteraciones hormonales (91).

En el caso de la muerte embrionaria temprana, la fertilización ocurre, pero el embrión muere antes de su adhesión al útero (71). En varios estudios se ha observado que el índice de fertilización después de la inseminación artificial en vaquillas normales es mayor al 90 %, sin embargo el porcentaje de parición es del 50 %, indicando que se produce una reducción debido a la mortalidad embrionaria (6,47).

La mortalidad embrionaria puede atribuirse a diversos factores como son: Factores genéticos (28,75), medio

ambientales (clima, nutrición) (22,58,65,84,86,87), número de parto (71,75), tiempo de inseminación y calidad del semen (5,41,52,75); medio ambiente uterino, (5,20,70) así como; infecciones (bacterianas y virales (15,70,75,91).

Tratando de resolver el problema de la hembra repetidora se han venido realizando algunas prácticas como : la monta directa (77), reinseminación (15,33), inseminación con semen de Bos Indicus (21,92), administración de sales y vitaminas (74,84,86) y manejo hormonal (9,37,39,40,59).

Los tratamientos hormonales más empleados tienen como finalidad mantener al cuerpo lúteo de la gestación (45,50,64). Basados en que existen autores quienes señalan que la disfunción del cuerpo lúteo (C.L.) es una de las causas de la muerte embrionaria temprana durante los dos primeros tercios de gestación en la vaca, debido a la producción insuficiente de progesterona (43,69,72,80,81,88). Por esta razón, los tratamientos están encaminados a suplementar la producción de progesterona ó a estimular la función lútea (59,62,63,75,77). A continuación se describen los principales resultados obtenidos hasta la fecha:

a) Suplementación con progesterona: Los tratamientos a base de progesterona se han administrado por vía intramuscular ó en dispositivo intrauterino, cuando se supone existe una deficiencia de esta hormona para mantener la preñez. Sin embargo, los resultados son poco satisfactorios, ya que sólo se logra un efecto de retroalimentación negativa disminuyéndose la secreción

de la Hormona Luteotrópica (LH), (16,17,58,71,77).

b) Estimulación de la función lútea: En vacas, la forma más común se basa en el empleo de Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) al momento de la inseminación artificial, después del estro 6 durante varios días en el ciclo previo a la inseminación, con la finalidad de formar cuerpos lúteos más grandes que contengan una mayor cantidad de progesterona que favorezca una mejor fertilidad al siguiente ciclo (32). Inclusive se ha llegado a administrar LH directamente mediante un vehículo de lenta liberación (68). Sólo que estos tratamientos no han demostrado mejorar en forma significativa la concepción en vacas y vaquillas (32,64,67).

Otra opción es la utilización de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que ha sido ampliamente utilizado, para resolver trastornos de la fertilidad tales como: quistes ováricos (12,40,42,67); retención de membranas fetales (39,55,59,63) y ovulación retardada (9,11,54,63).

En vacas y vaquillas reproductoras, GnRH, se ha empleado básicamente en dos formas: Al momento de la Inseminación y durante el diestro.

Al momento de la inseminación, el tratamiento tradicional consiste en aplicar la GnRH (100 µg) con la finalidad de asegurar que se produzca la ovulación (43,59,60,66,68,71).

Existen estudios que señalan un incremento significativo en el número de animales gestantes (de 7 a 25 %) al emplear este tratamiento (26,27,57,59,73).

Lee y cols. (46) realizaron varios experimentos en 1983,

emplearon vacas adultas normales y repetidoras a las que les aplicaron GnRH al día 14 posparto y al momento de la inseminación artificial, obteniendo un incremento de hasta 18 puntos más en el índice de concepción (I.C.) que con respecto a las testigo (50% vs 31.9 %, P <0.025). En cuanto a las vacas repetidoras, éstas alcanzaron índices significativamente más altos (P< 0.005) luego de aplicárseles GnRH al tercer servicio (72.9 % tratadas vs 47.8 % testigo).

Otra posibilidad al emplear GnRH es aplicarla durante el diestro: En estudios recientes en vacas repetidoras se ha probado el uso de la GnRH durante el diestro ó después de haber ocurrido la I.A. El tratamiento con GnRH en vacas repetidoras durante la fase lútea media anterior a la inseminación artificial (días 11-14 del ciclo), se ha llevado a cabo con la finalidad de favorecer un adecuado reclutamiento de los folículos en crecimiento hacia la fase preovulatoria, encontrándose además un mayor número de hembras en calor después del tratamiento así como un acortamiento del intervalo tratamiento- concepción y por lo tanto del periodo abierto (11,37,51,56).

Otros autores (38) combinaron el empleo de la GnRH en vacas adultas repetidoras en la fase lútea media del ciclo estral (día 12) con un análogo de Prostaglandina (PGF2 α) al día 17 previo a la inseminación, obteniendo de esta forma mayores índices de concepción (59%) que con la sola aplicación de PGF2 α (42%) ó GnRH (53%) (p< 0.01), logrando con el empleo de la prostaglandina reducir la posibilidad de perder calores luego del tratamiento con GnRH.

En contraste, Kinkie y cols. (44) Stevenson y Call (78) hallaron que el tratamiento con PGF2 α sola ó con GnRH no mejoró los índices de concepción y sólo retrasó el intervalo al siguiente servicio cuando se administró durante la fase lútea.

Por otro lado, la razón de emplearla varios días después de la I.A. es para estimular la liberación de gonadotropinas hipofisarias que a su vez estimulen la función del cuerpo lúteo, en los días donde se ha demostrado que la muerte embrionaria ocurre con mayor frecuencia (35,36,37,49). Además se ha detectado que la mayor parte (75-80 %) de las pérdidas embrionarias en las vaquillas repetidoras suceden antes de los días 15 al 18 postservicio, (13,41,45,47,54,85).

Algunos autores emplearon GnRH a los 4 días después de la I.A. en vacas de primer servicio sin haber encontrado una mejoría en el índice de concepción al primer servicio (12,59), posiblemente debido a que el periodo crítico, donde ocurre la mayor parte de las muertes embrionarias, parece ser tan pronto como el embrión llega al útero (cuando la mórula se transforma en blastocisto, lo que ocurre entre el día 6 y 7 postservicio (4,5,23), antes de la implantación (día 9) (45,47).

Mac Millan y cols. (49) utilizaron GnRH en dosis de 5 y 10 microgramos en vacas adultas entre los días 1 al 3, 4 al 6, 7 al 10 u 11 al 13, encontrando el mayor índice de concepción entre los días 11 y 13 (72.4 vs 60.9% con la dosis de 10 Mg del análogo (49). Thibier y cols. (83) realizaron recolecciones de embriones al día 11 posterior a la I.A. en vaquillas repetidoras

tratadas con GnRH en la fase lútea media anterior al servicio, encontrando un mayor número de embriones bien desarrollados en contraste al grupo testigo .

Humblot y Thibier (38) inyectaron GnRH a los 12 días después de la I.A. en vacas repetidoras encontrando que la tasa de concepción mejoró en 15 puntos en comparación con el grupo testigo, mientras que Drost en un estudio similar encontró un incremento del 25 % en vaquillas repetidoras (17).

Mac Millan y cols. (49) estudiaron el efecto de la inyección de GnRH aplicada entre el día 11 y 13 después de la I.A. en hembras repetidoras, quedando gestantes el 74.7 % de las vacas tratadas, lo que representó un aumento significativo, en contraste con el grupo testigo en donde sólo el 51.8 % de las vacas gestaron. Estos autores, indicaron además que cuando se inyecta GnRH en esos días se puede retrasar la luteolisis durante 2 a 3 días, lo que permitiría que las vacas puedan reconocer las señales de la gestación (48).

Lajili y cols. (45) encontraron una mayor influencia en el índice de concepción (62 % vs 40% $P < 0.01$) para las vacas sincronizadas con prostaglandinas (PGF2 alfa) además de ser tratadas con GnRH al día 12-14 post I.A., que para las que no fueron sincronizadas (60 % vs 40 %).

Los estudios al respecto aún son limitados motivo por el cual se hace necesario realizar más investigación mediante la aplicación de GnRH en vaquillas repetidoras al día 13 post-inseminación, con el propósito de incrementar las posibilidades de que dichas hembras queden gestantes y evitar con esto la repetición de calores.

El objetivo del presente trabajo consistió en determinar el efecto de la aplicación de GnRH al 13º día después del servicio sobre las concentraciones de progesterona y la fertilidad de vaquillas Holstein repetidoras de estro.

II. MATERIAL Y METODOS

2.1. Localización:

El presente estudio se realizó en el Centro de Recría del Complejo Agropecuario e Industrial de Tizayuca, Hidalgo, (CAITSA) durante los meses de julio de 1990 a enero de 1991. Este centro se encuentra situado en el km 57 de la Carretera Federal México - Pachuca. Su localización es de 19°, 50' de latitud norte, y de 98° 40' de longitud oeste. La altura es de 2,200 m. s.n.m. predominando el clima Cwo B seco subhúmedo con lluvias en verano. La temperatura promedio anual es de 16.3 grados centígrados y la precipitación pluvial media anual es de 375-450 mm (7,24).

2.2. MANEJO Y SELECCION DE LOS ANIMALES.

El CAITSA cuenta actualmente con 115 establos particulares con un promedio de 210 vacas cada uno, un centro de recría con capacidad para aproximadamente 5000 vaquillas de reemplazo. El centro de Recría esta formado por cuatro etapas : Lactancia, Desarrollo I, Desarrollo II, y Gestación.

Durante la etapa de Desarrollo II, las hembras que ingresan al programa reproductivo son lotificadas por edad en corrales con capacidad para 80 vaquillas y detectadas en calor mediante observación continua durante las 24 h del día por 3 veladores.

En esta etapa se inseminan por primera ocasión cuando han alcanzado la edad de 13 a 16 meses y han completado un peso mínimo de 320 kg. Después del servicio se siguen detectando calores. La revisión para el diagnóstico de gestación se realiza a los 45 días postservicio mediante palpación rectal, una vez positivas al examen, se trasladan a la última etapa que corresponde a la de gestación.

En el presente trabajo se realizó un estudio retrospectivo y un estudio experimental.

2.2.1. Estudio retrospectivo:

A partir de las tarjetas individuales se evaluó la eficiencia reproductiva obtenida en el centro de cría durante los años de 1988 a 1990, calculándose la incidencia de vaquillas repetidoras y el índice de concepción de acuerdo al número de servicio, para comparar los resultados con los obtenidos en el estudio experimental.

2.2.2. Estudio experimental:

Se empleó un grupo de 81 vaquillas consideradas como repetidoras y seleccionadas en base a los siguientes criterios:

- 1) Vaquillas Holstein con un peso mínimo de 320 kg.
- 2) Con ciclos estrales regulares.
- 3) Con aparato reproductor sin alteraciones detectables al examen rectal.

- 4) Libres de enfermedades infectocontagiosas.
- 5) Con 2 ó más servicios previos consecutivos sin haber logrado quedar gestantes.

La alimentación que recibieron estuvo basada en una dieta integral y balanceada a base de alfalfa seca, ensilado de maíz, concentrado con el 16 % de proteína cruda, melaza así como suplementación con sales minerales, vitaminas A, D y E.

Las 81 vaquillas repetidoras se dividieron aleatoriamente en 2 grupos:

El grupo testigo incluyó 41 vaquillas, a quienes se les aplicaron 2.5 ml de solución salina fisiológica (SSF) el día 13 posterior a la inseminación artificial.

El grupo tratado quedó constituido por 40 vaquillas que recibieron un tratamiento hormonal con un análogo GnRH (Gonadorelina) (Fertagyl, Laboratorios Intervet) a una dosis individual de 0.25 mg vía intramuscular, en el día 13 post inseminación.

Con el fin de determinar y comparar el comportamiento de los niveles plasmáticos de progesterona de ambos grupos, se seleccionaron 20 vaquillas de cada uno, a las cuales se les tomaron muestras de sangre diariamente durante 12 días, iniciando al día 10 post- inseminación.

Las muestras de sangre fueron colectadas en tubos vacutainer con capacidad de 10 ml, conteniendo en su interior 10 mg/ml de Fluoruro de sodio (61). Posterior a su obtención, las muestras se centrifugaron a 3 500 revoluciones por minuto durante 10 minutos para separar el plasma y ser mantenido en congelación,

hasta su procesamiento en el Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, utilizando para ello el método de radioinmunoanálisis fase sólida para determinar los niveles plasmáticos de progesterona (76,82).

En todos los casos las vaquillas se inseminaron por un técnico inseminador especializado y con semen de toros de conocida fertilidad. El diagnóstico de gestación se realizó alrededor del día 45 postservicio mediante la técnica de palpación rectal.

Se calculó para cada grupo el porcentaje de concepción, el análisis estadístico se obtuvo mediante una prueba de hipótesis para la diferencia de proporciones (empleando la distribución Z); Mientras que para determinar los efectos del GnRH sobre los niveles plasmáticos de progesterona, se compararon, entre grupos, los niveles medios de la hormona desde los días 10 al 21 del ciclo estral, empleando un análisis de varianza (14).

III. RESULTADOS

3.1. Estudio retrospectivo:

En el cuadro 1 se pueden observar los porcentajes de concepción para cada servicio en las vaquillas del centro de recría. También se aprecia que éstos se reducen gradualmente conforme aumenta el número de servicios (cuadro 1).

El índice de concepción para vaquillas con más de dos servicios previos fué de 47.7 %. Este valor se tomó como referencia para el estudio experimental, ya que el 95 % de las vaquillas empleadas fueron de tercer servicio.

CUADRO 1. PORCENTAJES DE CONCEPCION A DIFERENTE NUMERO DE SERVICIO EN LAS VAQUILLAS DEL CENTRO DE RECRÍA DEL COMPLEJO AGROPECUARIO DE TIZAYUCA, HIDALGO (MARZO DE 1987 A 1990).

NUMERO DE SERVICIO	VAQUILLAS INSEMINADAS (n)	% DE CONCEPCION
1	11343	62.5
2	4420	48.8
3	2285	47.7
4	1220	41.6
5	710	33.9
≥ 6	730	30.7

En el presente estudio se encontró que la incidencia global de vaquillas repetidoras fué del 28.4% para hembras de tres o más servicios y del 11.8% para vaquillas de 4 o más servicios, en una población de 16 430 animales. En el cuadro 2 se observa la incidencia de este problema por año.

CUADRO 2. PORCENTAJE DE VAQUILLAS REPETIDORAS EN EL CENTRO DE RECRÍA DE TIZAYUCA, HIDALGO. (1988-1990).

Año	Población Total	% de vaquillas repetidoras	
		≥ 3 servicios	≥ 4 servicios
1988	4648	43.3	14.26
1989	6194	24.15	12.89
1990	5588	17.96	8.37
GLOBAL	16 430	28.47	11.84

3.2. Estudio experimental:

En el presente estudio, de las 81 vaquillas empleadas, el 55.5% (45 vacas) se diagnosticaron gestantes en su primera revisión a los 45 días posteriores a la I.A. (cuadro 3).

El 57.5 % de las vaquillas del grupo tratado quedaron gestantes contra el 53.6% de las hembras del grupo testigo. Esta diferencia del 3.9% entre grupos no fue estadísticamente significativa ($P > 0.05$).

CUADRO 3. INDICES DE CONCEPCION DE VAQUILLAS REPETIDORAS TRATADAS CON ANALOGO DE LA HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROPINAS AL DIA 13 POST INSEMINACION ARTIFICIAL.

GRUPOS	n	GESTANTES	
		NUMERO	%
Testigo	41	22	53.6 α
Tratado	40	23	57.5 α
TOTAL	81	45	55.5

α : No se encontraron diferencias estadísticas en los porcentajes de concepción entre grupos ($p > 0.05$).

Por otra parte, el 23.5 % de las vaquillas tratadas y que repitieron calor quedaron gestantes al siguiente servicio, en contraste con el 42.1 % de las vaquillas del grupo testigo.

Al respecto, es interesante señalar que las hembras del grupo testigo que no gestaron requirieron 29 ± 13 días para retornar a estro, comparado con los 22 ± 3 días de las hembras del grupo tratado.

Los niveles plasmáticos de progesterona fueron comparados entre grupos a partir del día 10 al 21 (cuadro 4).

CUADRO 4. NIVELES PLASMATICOS PROMEDIO DE PROGESTERONA EN VAQUILLAS HOLSTEIN REPETIDORAS TRATADAS CON UN ANALOGO DE LA HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROPINAS AL DIA 13 POST-INSEMINACION ARTIFICIAL (NG / ML).

D I A S	GESTANTES				NO GESTANTES			
	TESTIGO		TRATADO		TESTIGO		TRATADO	
	X	EE	X	EE	X	EE	X	EE
10	5.5a	±0.36	6.46a	±1.50	4.25a	±0.57	4.71a	±0.53
11	4.98a	±0.50	7.60a	±1.58	4.22a	±0.50	4.68a	±0.35
12	5.08a	±0.43	7.24a	±1.92	4.37a	±0.24	4.88a	±0.58
13	5.28a	±0.24	6.04a	±0.38	4.9a	±0.50	7.53a	±2.72
14	5.45a	±0.36	5.72a	±0.38	4.91a	±0.53	4.84a	±1.02
15	5.85a	±0.55	6.21a	±0.47	4.67a	±0.21	4.71a	±0.44
16	5.29ab	±0.61	6.81b	±0.51	4.62a	±0.35	4.45a	±0.76*
17	5.61bc	±0.42	6.24c	±0.48	3.71ab	±0.79	2.94a	±0.77**
18	5.05bc	±0.43	6.78c	±0.25	3.66ab	±0.82	2.49a	±0.81**
19	5.38bc	±0.46	7.58c	±0.46	4.26ab	±1.12	2.19a	±1.02**
20	6.4c	±0.41	7.01c	±0.56	3.55b	±0.78	0.75a	±0.25**
21	8.4b	±2.71	6.95ab	±0.54	3.83ab	±0.99	0.54a	±0.08*

En general, valores de renglón que no compartan al menos una literal son estadísticamente significativos.

* P < 0.05

** P < 0.01

En la figura 1 se puede observar el patrón de comportamiento de la progesterona, en vaquillas gestantes o no, para cada grupo.

Las diferencias estadísticas entre grupos se presentaron a partir del día 16 postinseminación, principalmente entre el grupo de vaquillas tratadas que no lograron gestar con respecto a las vaquillas tratadas o testigo que sí gestaron (cuadro 4).

El patrón hormonal de las vaquillas gestantes (figura 2) fue más elevado desde los días previos (10 al 12) del tratamiento que el de las vaquillas no gestantes independientemente de si estaban tratadas o no. Mientras que en las vaquillas vacías (figura 3) los niveles hormonales permanecieron por debajo del de las gestantes. El pico de progesterona provocado por la aplicación del análogo de GnRH no logró mantener elevados los niveles de progesterona, descendiendo éstos posteriormente en forma normal.

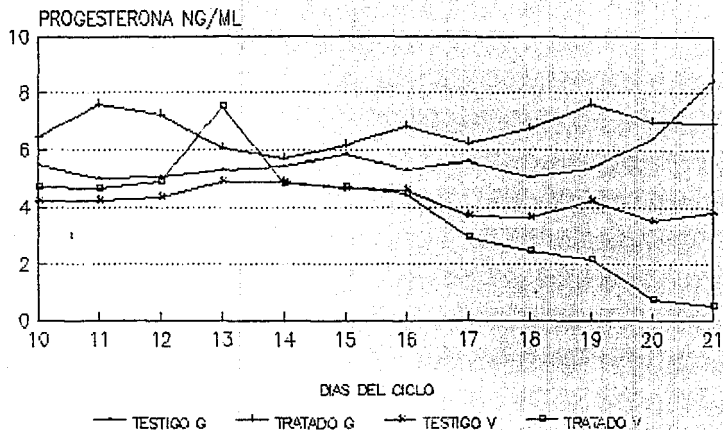


FIGURA 1

CONCENTRACION DE PROGESTERONA SERICA DE
VAQUILLAS REPETIDORAS GESTANTES Y VACIAS
TRATADAS CON GnRH EL DIA 13 POST I.A.

K2

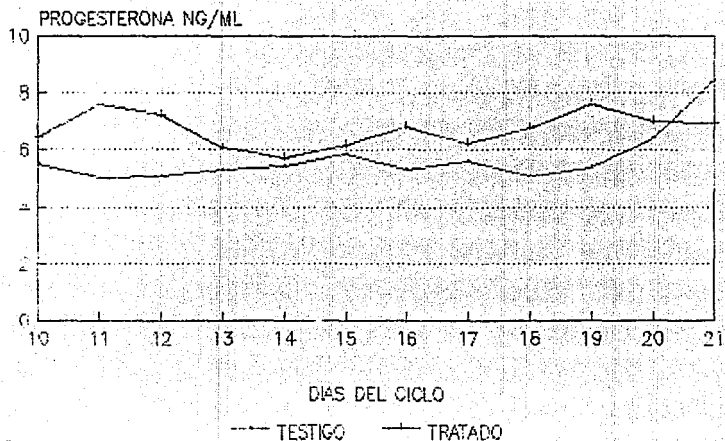


FIGURA 2

CONCENTRACION DE PROGESTERONA SERICA DE
VAQUILLAS REPETIDORAS GESTANTES TRATADAS
CON GnRH EL DIA 13 POST INSEMINACION

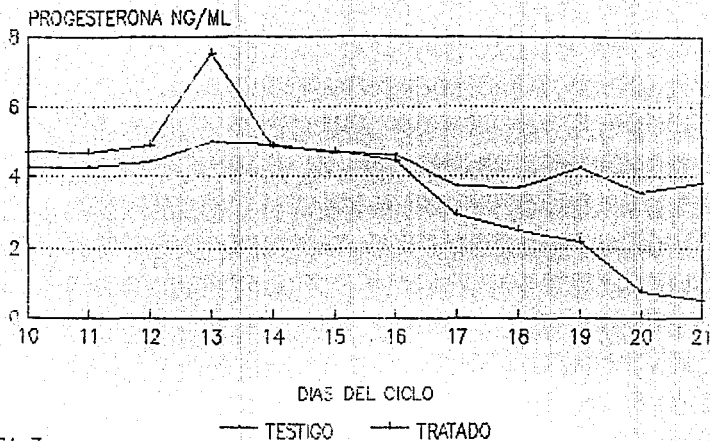


FIGURA 3

CONCENTRACION DE PROGESTERONA SERICA DE
VAQUILLAS REPETIDORAS VACIAS TRATADAS
CON GnRH EL DIA 13 POST INSEMINACION

IV. DISCUSION.

En el presente estudio se encontró que la incidencia de la vaquilla repetidora fué del 28.4 % si se considera a las hembras a partir de su tercer servicio, y de 11.8 % al tomar en cuenta a las hembras con cuatro o más servicios. Considerando este último grupo, el porcentaje resulta menor si se le compara con el encontrado por Hernández (17%) en 1989 en el centro de cría del CAITSA (33). Aunque en el presente trabajo se observaron variaciones anuales a esta incidencia, (8.3 hasta 14.2 %) el porcentaje encontrado se halla dentro del rango señalado por otros autores (5 al 18 %) (8,16,59,83,91).

De las 81 vaquillas empleadas en el experimento el 55.5% quedaron gestantes, independientemente del grupo al que pertenecieron, lo cual si se compara con el porcentaje de concepción en vaquillas de tercer servicio de dicho centro (47.7 %) resultó ser superior en 7.8 puntos, lo cual indica que probablemente las condiciones de manejo llevadas a cabo durante el experimento pudieran haber influido sobre este incremento en la concepción , ya que al ser incluidas en el experimento, las vaquillas fueron trasladadas a otro corral con un número de animales más reducido, prestándoles una mayor atención (30,31).

Al comparar los porcentajes de concepción del grupo tratado (57.5%) y del grupo testigo (53.6%) se aprecia que la fertilidad fue superior en un 3.9 % en las vaquillas del grupo testigo. Sin embargo, dicho incremento no fue estadísticamente significativo, ello podría haberse debido al reducido número de animales empleados durante el estudio (41 y 40 vaquillas para el grupo testigo y tratado respectivamente). La importancia de emplear un número adecuado de animales, radica en que la desviación estándar para el intervalo de confianza disminuye al aumentar el número de observaciones; de igual manera, se minimiza el margen de error. Así por ejemplo, se requerirían 384 observaciones para estimar el índice de concepción con un margen de error total máximo del 10 %, dado que en este trabajo, se emplearon 81 animales, el error esperado será mayor al 20 %, ya que este porcentaje se obtiene con un mínimo de 98 observaciones lo cual le resta confiabilidad al índice obtenido (90). Sin embargo, estudios previos en los cuales han empleado HCG, progesterona, GnRH u hormona trofoblástica bovina (bTP-1) para aumentar el índice de concepción en vacas con ciclos normales y repetidoras, aún utilizando un mayor número de animales no han alcanzado una respuesta esperada (10,18,29,45,75,78).

Como se indicó, la GnRH se ha aplicado tanto al momento de la IA (12,19,26,27,46,57) como en los primeros días posteriores a ésta; sin embargo los resultados de los estudios realizados hasta el momento han sido variables; Grunert (1978), por ejemplo, empleó una dosis de 1 mg de GnRH obteniendo resultados

significativos ($P < 0.01$) sobre el porcentaje de preñez (81.2% vs 67.9%) en vacas tratadas a la primera inseminación con un reposo posparto de 4 a 6 semanas y una producción láctea elevada (> 25 kg/día) (27). Para Lajili y cols. (45) los resultados alcanzados sobre el índice de fertilidad también fueron positivos ; Obtuvieron un índice de concepción del 60 % para las tratadas con 10 μ g de GnRH entre los días 12 a 14 post- inseminación, vs. el 44 % de las controles, ($P < 0.01$). En el mismo trabajo, otras vacas fueron previamente sincronizadas con PGF2 α , inseminadas y posteriormente tratadas con GnRH (días 12-14 post I.A.), obteniendo una mejor respuesta (62% vs 40% en las testigo). Esta mejoría continuó presentándose en las vacas no gestantes que fueron nuevamente inseminadas, ya que alcanzaron un índice de concepción del 59 % en contraste con el 44% de las testigo. Lee (46) encontró resultados positivos sobre el I. de C. en vacas adultas normales, repetidoras y vaquillas, luego de aplicar GnRH tanto a los 14 días posparto como al momento de la primera inseminación posparto (≥ 60 días); obteniendo en las vacas normales un índice del 50 % vs 31.9 % del grupo testigo, $P < 0.025$ mientras que en vacas repetidoras un 72.9 % en el grupo tratado vs 47.8 % de las testigo. No sucedió lo mismo en vaquillas en quienes la inyección de este análogo, al momento de la 1a y 2a inseminación, no obtuvo ningún efecto significativo sobre su fertilidad (68.8 % SSF vs 64.4 % GnRH al 1er servicio y 80.7% SSF vs 80.4 % GnRH al segundo servicio).

Se ha sugerido que la alta sobrevivencia embrionaria en vacas está asociada a grandes picos preovulatorios de LH y altas producciones postovulatorias de progesterona (13,18,32,4345,48). Dichos efectos se han intentado imitar mediante la administración exógena de GnRH, la cual induce la secreción de LH, mejora el desarrollo del cuerpo lúteo e incrementa la concentración de progesterona, lo cual justificaría el uso del GnRH (17,64,77,78). En el presente trabajo sólo se logró elevar las concentraciones de progesterona en el grupo de vaquillas tratadas y que posteriormente no lograron su gestación (figuras 1 y 3) pero sólo en forma transitoria durante algunas horas, lo cual no sucedió en el grupo de vaquillas que se trataron y lograron gestar. Esto coincide de alguna forma con lo reportado por Seguin y cols., quienes en vaquillas tratadas (entre los días 10 y 15) con GnRH encontraron un incremento abrupto de LH sérico por 1 ó 2 h pero 6 h después de su aplicación, la progesterona había regresado a sus niveles basales (2 ng/ml), no logrando estimular la función lútea por más tiempo. En contraste, en el mismo estudio, Seguin y cols. (67), encontraron que en las vaquillas a las que se les aplicó HCG, se prolongó el efecto luteotrópico por 7 días, manteniéndose la LH en una concentración de 4.0 ng/ml durante 10 h, probablemente como lo explican estos autores, se deba a que HCG tiene una vida media más larga que GnRH (18).

Estos resultados pudieran sugerir que se requiere un estímulo más constante de GnRH durante varios días para lograr mantener al C.L. por más tiempo. Al respecto, Milvae y cols. (54)

mencionan que cuando se inyectaron 10 μg de GnRH por vía subcutánea 4 veces al día en los días 9-12 post inseminación, se obtuvieron ciclos más largos (26.2 ± 0.72 días vs 20.25 de las testigo) con el consiguiente alargamiento de la vida lútea media.

Eduvie y Seguin (1981), aplicaron HCG de igual forma en la fase lútea media post- inseminación (días 9, 10 u 11) con 4, 2 ó 1 aplicaciones, intramusculares (10 000 UI) encontrando un alargamiento de la fase lútea hasta por 5 días, pero en contraste, los índices de preñez no aumentaron significativamente (18) demostrándose así, que las administraciones repetidas de estos productos hormonales no necesariamente garantizan un aumento la fertilidad, aunque sí representan un costo adicional (32,53,66,76).

Se ha manejado la hipótesis de que cuando se emplea GnRH en la fase lútea media anterior a la inseminación, tiene un efecto benéfico sobre los siguientes servicios o en la detección de los calores subsecuentes debido a que existe un mejor control del reclutamiento de los folículos dominantes durante la segunda parte del ciclo estral (11,18,45) Bhosrekar y cols. (1986) aplicaron GnRH (20 μg) a vacas repetidoras el día 13 del ciclo previo a la I.A. encontrando una mayor proporción de vacas en calor (75 % de hembras del grupo tratado vs 43.2% del grupo control, $P < 0.01$) un índice de concepción mayor (47.6 % en las tratadas vs 34.3 % en las testigo) con un intervalo de 43.3 ± 32 días del grupo testigo vs 28.6 ± 26 días en el grupo tratado desde el tratamiento hasta la concepción (11).

Sin embargo, en el presente trabajo se observó que los animales que no concibieron tuvieron un retorno a calor más rápido (22 ± 3 días) en las vaquillas del grupo tratado que en las del grupo testigo (29 ± 13); Aunque el índice de concepción obtenido a la siguiente inseminación fue mayor para las vaquillas testigo que para las del grupo tratado (40% vs 23.5% respectivamente). En la figura 3, se aprecia cómo los niveles plasmáticos de progesterona disminuyeron más rápido en las vaquillas que recibieron tratamiento hormonal.

Tal vez la GnRH no tuvo el efecto esperado en las vaquillas debido a que es probable que intervengan otros mecanismos además de las concentraciones de progesterona para mantener la gestación y el diálogo bioquímico entre madre y embrión (32)

Finalmente, cabe mencionar que antes de iniciar un programa de manejo hormonal es necesario mejorar las condiciones ambientales, nutricionales y de manejo, tales como una detección intensiva de calores, así como el uso de semen de elevada fertilidad (15), mismos que constituyen una base importante para incrementar la fertilidad del hato (21,25,59).

LITERATURA CITADA:

1. Análisis de la ganadería productora de leche. Documento. Síntesis lechera: nums. 9, 10, 11. (1989).
2. Alonso, F., Bächtold, E., Aguilar, A., Juárez, J., Casas, V., Meléndez, J., Huerta, E., Mendoza, E. y Espinoza, A: Economía Zootécnica. 2a ed. LIMUSA, México, 1989.
3. Avila, T.S.: Producción Intensiva de Ganado Lechero. 3a ed. CECSA. México, 1986.
4. Ayalon, N.: A review of embrionic mortality in cattle. J. Reprod. Fert., 54: 483 (1978).
5. Ayalon, N.: The repeat Breeder Problem. Proceedings of the 10th Interntional Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. Illinois, 1984, III 41-50, University of Illinois. Urbana Champaign (1984).
6. Azzazi, F. and Gaverick, H.: The effect of Estradiol 17 B and estrone administration on GnRH induced LH release during the early postpartum in dairy cattle. Theriogenology. 21: 447-454 (1984).
7. Banco Nacional Agropecuario, S.A. Fideicomiso PRODEL. "Anteproyecto del Programa". Capítulo 1. México, D.F.(1974).
8. Bearden, J. and Fuquay, J: Applied Animal reproduction. 1a ed. Reston Publishing Company, USA, 1980.
9. Beatly, J., Koonce, K., Roussel, J.: Gonadotropin releasing hormone therapy in functional infertility of dairy cattle. Theriogenology. 30: 1115-1119 (1988).
10. Betteridge, K. and Derbyshire, R.: Interferon like activity released by bovine embryos and trophoblastic tissue in vitro. J. Reprod. Fert., 1: Abst. 31.(1988).
11. Bhosrekar, M., Inamdar, A., Joshi, B., Phadinis, Lockhande and Mangurkar, B.: treatment with a GnRH analogue (Buserelein) at mid-luteal phase in repeat breeding dairy cows. Indian Vet. J., 63: 833-837 (1986).
12. Bon Durant, R., Revah, I., Ranti, C., Harman, C., Hird, Kingborg, Mc Closkey, Weaver, L. and Wilgenberg, B.: Effect of GnRH on fertility in repeat-breeder California dairy cows. Theriogenology. 2: 365-372 (1991).

13. Curran, S., Pierson, A. and Ginther, O.J.: Ultrasonographic appearance of the bovine conceptus from days 10 through 20. JAVMA, 10: 1289-1249 (1986).
14. Daniels, W.: Bioestadística. 1a ed. LIMUSA. México. 1977.
15. Drost, M. : Repeat Breeders In: Cow Manual. Edited by: Journal Society for Theriogenology, XIV, 47-55. Society for Theriogenology.Nebraska, USA. 1987.
16. Drost, M.: Clinical use of hormones.In: Cow Manual. Edited by: Journal Society for Theriogenology. 73-80. Society for Theriogenology, Nebraska,1987.
17. Drost, M.: Minimizing embryonic loss in cattle. Curso Internacional de Reproducción Bovina (memorias), Zacatecas , 51- 56, UNAM, México, (1989).
18. Eduvie, L. and Seguin, B.: Corpus Luteum Function and pregnancy rate in lactating dairy cows given human chorionic gonadotropin at midiestrus. Theriogenology; 4: 415-422 (1982).
19. El Azab, M.A., Labib, F., Sharawy, S.M.: Injection of gonadotropin releasing hormone (GnRH) immediately following artificial insemination to improve reproductive efficacy of repeat breeder cows. Journal of the Egyptian Veterinary Medical association; 47:291-297 (1987).
20. Eyestone, W., Jones, J.M. and First, N.L.: Some factors affecting the efficacy of oviduct tissue conditioned medium for the culture of early bovine embryos.J. Reprod. Fert., 22:59-64 (1991).
21. Franco, O., Drost,M., Thatcher,M., Shille,V. and Thatcher,W.: Fetal Survival in the cow after pregnancy diagnosis by palpation per rectum.(Memorias). Curso Internacional de Reproducción bovina. Zacatecas, UNAM México (1989).
22. Francos,M., Davidson,M. and Mayer,E.: The influence of some nutritional factors on the incidence of the repeat-breeder syndrome in high producing dairy herds. Theriogenology., 7: 105-111 (1977).
23. Galina, C., Satiel, A., Valencia, J., Becerril, J., Bustamante, G., Calderón, A., Duchateau, A., Fernández, S., Olgún, A., Páramo, R. y Zarco, L: Reproducción de Animales Domésticos. 1a ed. LIMUSA, México, 1986.
24. García, M.: Modificación al sistema de clasificación climática de Köpen. Instituto de geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1981.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

25. Gasque, R.: Déficit Lechero Mexicano, sus implicaciones y significado. IV Congreso Panamericano de la leche. Guadalajara, Jal. pg 151. México, 1991.
26. Goldbeck, U.: Improvement of first Inseminations results in cattle with Gonadotropin Releasing Hormone. Vet. Bull. 47: 5275. Abst. (1977).
27. Grunert, E., Tholen, I. y Goldbeck, U.: Influencia de la hormona sintética liberadora de gonadotropinas sobre el resultado de la inseminación en vacas. El libro azul: 15: 371-375 (1978).
28. Gustafsson, H., Larsson, K., Kindal, H. and Madej, A.: Secuential endocrine changes and behaviour during oestrus and metoestrus in repeat-breeder and virgin heifers. Animal Reproduction, 10: 261-278 (1986).
29. Hansen, P.: Rescue of the Corpus Luteum from luteolysis by bovine Throphoblast Protein-1: An example of maternal recognition of pregnancy. Memorias del IV Curso Internacional de Reproducción Bovina, México, D.F. 1-25, UNAM, México (1992).
30. Hansen, P.J.: The relationship between energy status and the resumption of estrous cycles in cattle. Memorias. IV Curso Internacional de Reproducción Bovina, México, D.F. 57-66, UNAM, México (1992).
31. Hansen, P. J.: ¿ Puede hacerse el ganado más resistente al estrés del calor?. Memorias. IV Curso Internacional de Reproducción Bovina, México, D.F. 24-30 UNAM, México (1992).
32. Helmer, S. and Britt, J.: Fertility of dairy cattle treated with human chorionic gonadotropin to stimulate progesterone secretion. Theriogenology, 5: 683-695 (1986).
33. Hernández, C.J.: Incidencia de Ovulación Retardada y sus efectos sobre la función del C.L. y la fertilidad de vaquillas holstein. Tesis de Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1989.
34. Hernández, C.J., Porras, A:A:, Sagardía, R.J. y Lima, T.V.: Estudio preliminar sobre causas de desecho y pérdidas de gestaciones de vaquillas holstein de reemplazo durante la etapa reproductiva. XVI Congreso Internacional de Buiatría (memorias). Veracruz. 1991. pg 31-35. Asociación Mexicana de Med. vet. Especialistas en Bovinos. México, 1991.
35. Humblot, P. and Thibier, M. Progesterone monitoring of anestrus dairy cows and subsequent treatment with a Prostaglandin F2a analogue or Gonadotropin releasing Hormone. Am. J. Vet. Res., 41: 1762-1766 (1980).

36. Humblot, P. and Thibier, M. : Utilisation dans gonadolibérine (LRH) dans le traitement des bovins repeat breeders. 10ème Congrès Mondial de Buiatrie, México. 141-148. México (1978).
37. Humblot, P. and Thibier, M.: Utilisation de schémas thérapeutiques dans un programme de contrôle de l'infécondité dans un troupeau de vaches laitières. Rec. Méd. Vét., 157: 91-104 (1981).
38. Humblot, P. and Thibier, M.: Effect of gonadotropin releasing hormone treatment during the midluteal phase in repeat breeder cows. A preliminary report. Theriogenology, 16: 375-378 (1981).
39. Humke, R. y Möller, P: Inducción temprana del ciclo en el puerperio del bovino mediante la GnRH y el análogo Buserelina para prevenir trastornos de la fertilidad. Comunicación de la Hoechst. Conceptal-Receptal.
40. Jöchle, W.: Review: Releaser hormones; Uses in therapy and Biotechnique. Animal Reproduction Report; 2: (1979).
41. Kastelic, D., Northey, D. and Ginther, O.: Spontaneous embryonic death on days 20 to 40 in heifers. Theriogenology; 2: 351-363 (1991).
42. Kesler, D.: Gonadotropin releasing hormone treatment of dairy cows with ovarian cysts. I Gross ovarian morphology and endocrinology. Theriogenology, 16: 207-215 (1981).
43. Kimura, M., Moryoshi, M., Nakao, T. and Kawata.: Luteal phase deficiency as a possible cause of repeat breeding in dairy cows. British Veterinary Journal; 143: 560-566.
44. Kinkie, R., Anderson, D., Moody, E., Burfening, P.: Breeding Heifer by Appointment with PGF2 and GnRH. J. Anim. Sci., 42: 1564-1565 (1976).
45. Lajili, H., Humblot, P. and Thibier.: Effect of PGF2 α treatment on Conception rates of dairy cows treated with a GnRH agonist 12 to 14 days after Artificial Insemination. Theriogenology; 2: 335-347 (1991).
46. Lee, C., Maurice, E., Ax, P., Pennington, J., Hoffman, W., and Brown, M.: Efficacy of Gonadotrophin Releasing Hormone Administered at the time of Artificial Insemination of Heifers and Pospartum and Repeat Breeder Dairy Cows. Am. J. Vet. Res., 44: 2160-2163 (1983).
47. Linares, T.: Embryonic development in repeat breeder and virgin heifers seven days after insemination. Anim. Reprod. Sci., 4: 189-198 (1981-1982).

48. Mac Millan, K., Day, A., Taufas, V., Gibb, M. and Pearce, M.: Effect of an agonist of gonadotrophin releasing hormone (buserelin) in cattle. I Hormone concentrations and oestrus cycle length. Anim. Reprod. Sci., 8:203-212 (1985).
49. Mac Millan, K., Day, A. and Taufas, V.: Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone (buserelin) in cattle. III. Pregnancy rates after a post-insemination injection during metaoestrus or dioestrus. Anim. Reprod. Sci., 11: 1-10 (1986).
50. Manns, J.G.: The use of Prostaglandins for Regulation of the Estrous Cycle and as an Abortifacient in cattle. Large Animal Practice, 1:169-181 (1983).
51. Martal, J., Charpigny, G. and Reinaud.: Embryonic signals and corpus luteum: Why three isoforms of trophoblastin can be considered as interferons- α of class II? J. Reprod. Fert., 2: Abst.2 (1988).
52. Martínez, A.: Evaluación de la eficiencia en la detección de estros en ganado bovino lechero, mediante la determinación de progesterona plasmática al momento de la Inseminación Artificial. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 1988.
53. Mc Caffrey, T., Mc Evoy, M., Diskin, F., Gwazdauskas, M., Kane, T. and Sreenan, J.: Successful co-culture of 1-4 cell cattle ova to the morula or blastocyst stage. J. Reprod. Fert., 91: 119-124 (1991).
54. Milvae, R., Murphy, B. and Hansel, W.: Prolongation of the Bovine Estrous Cycle with a Gonadotropin releasing Hormone Analog. Biology of Reproduction, 31: 667-670 (1984).
55. Mori, J., Oyachi, K., Kawate, N., Inaba, T.: GnRH analogue leads to improve breeding efficiency in cows with retained fetal membranes. Veterinary Record, 123: 352 (1988).
56. Murphy, M., Mc Connel, K and Roche, J: Delayed ovulation in beef suckler cows is due to failure of ovulation of dominant follicles. Journal of Reproduction and Fertility, 3: 34.
57. Nakao, T., Narita, K., Hara, H., Shirakawa, J., Nashiro, H., Saga, N., Tsunada, N., Kawata, K.: Improvement of first Service Pregnancy Rate in Cows with Gonadotropin Releasing Hormone Analog. Theriogenology, 20: 111-119 (1983).
58. Peters, A.: Calving intervals of beef cows treated with either gonadotropin releasing hormone or a progesterone releasing intravaginal device. Vet. Rec., 110: 515-517 (1982).

59. Philip, T.: El GnRH en el manejo reproductivo de hatos lecheros. Memorias del Curso Internacional de Reproducción Bovina. México, D.F. 1990, 62-76, México (1990).
60. Posadas, E. : Efecto del GnRH (Factores Liberadores de Gonadotropinas en vacas cebuinas superovuladas. Tesis de Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. D.F., 1986.
61. Pulido, A.: Establecimiento de la Metodología para el manejo óptimo de muestras de sangre y leche de ganado cebú (Bos indicus) destinadas a la determinación de Progesterona por medio de Radioinmunoanálisis. Tesis de Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1989.
62. Roussel, J., Beatty, J. and Koonce, K.: GnRH therapy in functional infertility of dairy cattle. Theriogenology; 5: 115-119 (1988).
63. Sandow, J., Rechenberg, W. y Engelbart, K.: Acción hormonal y farmacológica de la buserelina (Conceptal), hormona desencadenante de las gonadotropinas, altamente activa. El libro azul; 16: 413-422 (1979).
64. Savio, J.D., Bongers, H., Drost, M., Lucy, M. and Thatcher, W. Follicular dynamics and superovulatory response in holstein cows treated with FSH-P in different endocrine states. Theriogenology, 5: 915-929 (1991).
65. Scott, G., Kurz, R., Dyer, M., Hu, Y., Wright, M. and Day, M.: Regulation of Luteinizing hormone secretion in prepubertal heifers fed an Energy-Deficient diet. Biology of Reproduction, 43: 450-456 (1990).
66. Seguin, B.E., Convey, E.M. and Oxender, W.D.: Effect of Gonadotropin Releasing Hormone and Human Chorionic Gonadotropin on Cows with Ovarian Follicular Cysts. Am. J. Vet. Res. 37: 153-157 (1976).
67. Seguin, B.E., Oxender, W.D. and Britt, J.H.: Effect of Human Chorionic Gonadotropin and Gonadotropin- Releasing Hormone on corpus Luteum Function and Estrous Cycle Duration in Dairy Heifers. Am. J. Vet. Res., 8: 1153-1156 (1977).
68. Seguin, B., Convey, E., Oxender, W.: Effect of Gonadotrophin releasing hormone or a progesterone releasing intravaginal device. Vet. Rec., 110: 515-517 (1982).
69. Segura, C., Rodríguez, R., Oliva, H.: Efecto del masaje al clítoris sobre la concepción en vaquillas de 4 genotipos. Reunión de Investigaciones Pecuarias. (memorias) 360-361. México. 1989.

70. Semambo, T., Ayliffe, D., Taylor, J., Renton, J. and Omeran, S.: Actinomyces pyogenes in early embryonic death in cattle. J. Reprod. Fert.; **3**: Abs. 23 (1989).
71. Senger.: Repeat- breeders. Hoard's Dairyman; **8**: 370 (1989).
72. Shams, D., Hofert, F., Shallenberg, E., Hartlkang.: Pattern of LH and FSH in bovine blood plasma after injection of a synthetic gonadotrophin releasing hormone. Theriogenology; **1**: 137-151 (1974).
73. Schels, H., Mostafawi, P.: The effect of GnRH on the Pregnancy Rate of Artificially Inseminated cows. Vet. Rec.; **103**: 31-32 (1978).
74. Shin, S.: Effects of selenium-vitamin E administration and serum mineral levels on incidence of retained fetal membranes in dairy cows. Korean Journal of Veterinary Research; **1**: 117-126 (1987).
75. Sreenan, J. and Diskin, M.: Early embryonic mortality in the cow: Its relationship with Progesterone concentrations. Veterinary Record; **112**: 517-521 (1983).
76. Srikandakumar, A., Ingraham, B.H., Ellsworth, M., Archbald, L.F., Liao, A. and Godke, R.A.: Comparison of a solid-phase, no extraction radioimmunoassay for progesterone with an extraction assay for monitoring luteal function in the mare bitch and cow. Theriogenology; **26**: 799-793 (1986).
77. Stevenson, J., Schmidt, M., Call, E.: Gonadotropin Releasing Hormone and conception of Holsteins. J. Dairy Science.; **67**: 140-145 (1984).
78. Stevenson, J. and Call, E.: Conception rates in repeat Breeders dairy cattle with unobserved estrus after PGF₂α and GnRH. Theriogenology; **2**: 451-459 (1988).
79. Talavera, C., De la Fuente, G., Berruecos, J.: Pérdidas económicas por problemas reproductores. III. Edad y causas por las que son desechadas en México las vacas lecheras estabuladas. Tec. Pec.; **24**: 21-32 (1973).
80. Thatcher, W. W., Bartol, F. F., Knickerbocker, J., Curl, J.S. and Wolfenson, D.: Maternal recognition of pregnancy in cattle. J. Dairy Sci.; **67**: 2797-2811 (1984).
81. Thatcher, W., Macmillan, K., Hansen, P. and Drost, M.: Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. Theriogenology.; **1**: 149-168 (1989).

82. Thatcher, W., Collier, R., Drost, M., Putney, J., Beede, D. and Wilcox, C.: Applications of hormone Radioimmunoassays on studies of Environment and Reproduction interactions in Large ruminants. Curso Internacional de Reproducción Bovina (memorias). Zacatecas, 1990. UNAM, México (1989).
83. Thibier, M., Gouffé, Jean, Valognes, Daunizeau, A. and Humblot.: Enhancing the rate of recovery and equality of the embryos in repeat breeding cows by using a GnRH analogue injection at mid-luteal phase prior to breeding. Theriogenology; 6: 725-736 (1985).
84. Troncoso, A.H.: Nutrición y Enfermedad. Memorias. IV Curso Internacional de Reproducción Bovina, México, D.F.1-23, UNAM, México 1992.
85. Van Vliet, R., Walton, Wildeman, ettridge. and Verrinder.: Absence of oxytocin-neurophysin messenger RNA in the day 18 bovine conceptus. J. Reprod. Fert.; 11: 73-79 (1991).
86. Wemheuer, W.: Evaluation of blood values in dairy herds with fertility disorders. Tierärztliche Praxis; 15: 353-360 (1987).
87. Wilcox, J., Hansen, J. y Becerril.: Reducir efectos del estrés calórico en regiones tropicales. Lechero latinoamericano; 3: 21-24 (1990).
88. Wrigth, A., Rhind, S.M., Whyte, T.K., Smith, A.J., Mc Millen, S.R. and Prado, R.: Circulating concentrations of LH and FSH and pituitary responsiveness to GnRH in intact and ovariectomized suckled beef cows in two levels of body condition. Memorias. IV Curso Internacional de Reproducción Bovina. México, D.F. 11-14, México, UNAM, 1992.
89. Zarco, L.: Factores que afectan los resultados de la I.A. Curso Internacional de Reproducción bovina (memorias) Zacatecas, 1989. 1-10. México, 1989.
90. Zarco, L. y Saharrea, A.: factores a considerar al evaluar la fertilidad del ganado bovino. Memorias, IV Curso Internacional de Reproducción Bovina. México, D.F. UNAM. 1992.
91. Zemjanis, R.: "Repeat Breeding" or Conception Failure in cattle. In: Current Therapy in Theriogenology. Edited by: Morrow. 205-210. W.B. Saunders Company, USA, 1980.
92. Zemjanis, R.: Reproducción animal. Diagnóstico y Técnicas terapéuticas. 9a reimpresión. LTMUSA, México, 1985.