

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**Efecto de la aplicación de la Hormona Liberadora de Gonadotropina (GnRH) o
Gonadotropina Coriónica Humana (hCG) sobre el porcentaje de gestación en vacas
Holstein Friesian.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**PRESENTA:
JOEL LÓPEZ HERNÁNDEZ**

ASESOR: Dr. FERNANDO OSNAYA GALLARDO

CUAUTITLAN IZCALLI EDO. DE MEXICO 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

A MIS PADRES, HERMANAS Y A TODA MI FAMILIA.
A QUIEN ME PROTEGE DE NOCHE Y DE DIA, LA RAZON POR LA QUE VIVO Y
MUERO MACHU, TONAMITL Y METZTONALLI.
TE AGRADEZCO, QUERIDO AMIGO SIEMPRE ESTARAS EN MI ALMA, ME DISTE
FUERZA, ALEGRIA, VALENTIA Y AQUÍ ESTOY DE PIE GRACIAS A TI ING.
ANASTACIO HERNÁNDEZ SALGADO.

b. ÍNDICE

a. Título	1
b. Índice	3
c. Resumen	4
d. Introducción	5
e. Objetivos e hipótesis	11
f. Materiales y métodos	12
g. Resultados	14
h. Discusión	16
i. Conclusiones	17
j. Bibliografía	18

c. RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta de la administración de GnRH y hCG en el día 9 post-inseminación sobre el porcentaje de gestación en vacas Holstein Friesian. La presente investigación se realizó en el rancho “Villa Maria” una explotación de bovinos productores de leche, localizado en el Municipio de Teoloyucan, ubicado en la porción noroeste del Estado de México. Las vacas fueron seleccionadas al azar para la aplicación de tres tratamientos: GnRH (n = 59); hCG (n = 57) y SSF (n = 51). Al grupo de GnRH se le administró 100 µg de acetato de gonadorelina, al grupo de hCG se le administraron 1500 UI de hCG y al grupo de SSF se le administraron 2 ml de solución salina fisiológica, la administración de los tratamientos para los tres grupos fue por vía intramuscular a los 9 días post-inseminación. El diagnóstico de gestación se realizó a los 60 días post-inseminación. Los datos se analizaron mediante la prueba de Ji cuadrada para determinar si hubo diferencias estadísticas para las variables porcentajes de gestación entre los tres grupos tratados. Encontrando que las vacas preñadas no fueron diferentes entre los tratamientos. Los porcentajes de gestación fueron de 33.9, 40.6 y 25.9% para los tratamientos GnRH, hCG y testigo respectivamente y no hubo diferencias estadísticas significativas. Tampoco hubo diferencias estadísticas en los días al tratamiento y el número de servicios. Se concluye que en este trabajo la aplicación de GnRH y hCG a los 9 días post – inseminación no tuvo efecto positivo sobre el porcentaje de fertilidad en vacas Holstein Friesian.

d. INTRODUCCIÓN

En México y en el mundo, el panorama general del mercado de la leche señala una demanda creciente e insatisfecha de tal producto. Una forma de superar dicho déficit es a través del mejoramiento de la reproducción, ya que para producir leche una vaca necesita parir. Sin embargo, para solucionar los problemas reproductivos del ganado se debe tener conocimiento sobre los componentes de la eficiencia reproductiva, como: días a primer servicio (DPS), días a servicio fértil (DSF), porcentaje de fertilidad (%F), número de servicios por concepción (NSC) e intervalo entre partos (IEP).¹

Los modelos económicos respaldan que las vacas proporcionan una óptima utilidad por los ingresos obtenidos por la venta de leche cuando los intervalos entre partos por vaca son de 12 a 13 meses.² Los intervalos entre partos recomendados para las vacas de primer parto son de entre 13 y 14 meses, mientras que para las vacas multíparas se espera que sean de 12 meses. Para lograr intervalos entre parto de 12 y 13 meses es indispensable que las concepción se realice a los 85 y 120 días posparto respectivamente.²

La tasa de preñez, es la medida preferida y el parámetro más aceptado para evaluar la eficiencia reproductiva y que consiste en el porcentaje de vacas elegibles para servicio (es decir, vacas que necesitan ser expuestas a semen para lograr la concepción) dentro de un intervalo dado (21 días, que es la duración promedio de un ciclo estral), que quedan preñadas en realidad.² Una vaca elegible es aquella que ha pasado el periodo de espera voluntario, que no esta gestante, que no tiene un servicio con resultado desconocido y que no esta marcada “para no servirse”. Lo común es que aproximadamente un 30% del hato se encuentra en esta situación de vaca elegible para servicio. El gran reto hoy en día es lograr preñar una cuarta parte de esas vacas elegibles para servicio, en cada periodo de 21 días que transcurren en el calendario.² La tasa de preñez implica un determinado logro (cantidad) por unidad de tiempo, la meta es el 40%. En la tasa de preñez la unidad de tiempo utilizada en el denominador es el periodo de 21 días y en este caso no se utiliza directamente una cantidad.² Al dividir el programa de servicios en intervalos de 21 días es posible determinar el efecto de los sucesos recientes o de los cambios de manejo sobre la eficiencia

reproductiva. Esta definición de la tasa de preñez proporciona un método para monitorear la tasa con que quedan preñadas las vacas.² En la medida que se reduce la tasa de preñez se incrementa el promedio de días en leche (días abiertos) y esto aumenta los costos por concepto de manejo, alimento y veterinario.²

La tasa de servicios mide que proporción de vacas elegibles para servicio en cada ciclo, ya sea mediante la detección de celo natural o inducido. Dalton (2006) recomienda una tasa de servicios de 70%.² Actualmente las bajas tasas de concepción en vacas de alta producción son menores al 50% sin embargo, algunas presentan la fertilización pero no logran mantener la gestación.³ Una proporción de estas vacas si presentan manifestaciones de celo y son expuestas nuevamente al servicio y cuando no son detectadas se vera afectada la eficiencia reproductiva por el incremento de los días abiertos.² Para reducir este impacto es necesario establecer programas de diagnóstico de gestación precoz.^{2,3}

Todo programa de inseminación artificial (IA) debe integrar la detección eficiente y precisa del calor (estro), la falta de detección de calores es el problema más común y costoso de los programas de IA, la eficiencia en la detección de calores (definida como la proporción de periodos estrales posibles detectados durante un tiempo dado) probablemente sea inferior al 50% en la mayoría de los hatos. La precisión en la detección de calores (definida como la proporción de periodos de estro detectados mientras las vacas están verdaderamente en estro), varía ampliamente. Se ha reportado que el 5% de las vacas presentadas en calor no estaban en celo, en base a sus niveles altos de progesterona en leche.² se ha determinado que el intervalo desde el establecimiento del calor estático (quedarse quieta la vaca para ser montada por una compañera) hasta la ovulación es de 28 horas, aproximadamente.^{2,4} El momento óptimo para la IA es de 6 a 12 horas luego de que son detectadas en celo, “dejarse montar”.⁴ La detección de celos se realizará con ayuda de dos trabajadores durante día y noche, además, de podómetros en todas las vacas, los podómetros miden la actividad, identifican a las vacas y el incremento de la actividad. La vaca en celo se observa inquieta, la alimentación queda muchas veces interrumpida, el tiempo de rumia se reduce y la producción de leche disminuye, en lugar de comer la vaca aumenta sus desplazamientos, e intenta montar o solicita ser montada por otras vacas. Mediante el uso de podómetros se

han constatado, cuantificado y relacionado los cambios producidos en la actividad de las vacas en los periodos periestrales. Un 70 - 80% de los celos pueden ser detectados por el uso de podómetros, ya que en condiciones intensivas una vaca en celo es 2.76 veces más activa que una que no lo está.⁵ El incremento en la actividad se produce 4 horas antes de que se manifieste el celo siendo el momento optimo para la IA a las 11.8 ± 1.7 horas de haberse detectado un incremento en la actividad. Al igual que otros signos de celo, los movimientos aumentan en función al número de partos de la vaca y disminuyen con la lactación.⁵⁻⁸

La relación fisiológica que existe entre la ovulación y el principio de la conducta del estro subraya la importancia de la detección precisa del calor; los fenómenos biológicos que contribuyen a la eficacia de la IA incluyen: 1) tiempo de transporte que requiere el espermia viable desde el sitio de su depósito hasta el lugar de la fertilización, 2) el periodo viable funcional de los espermatozoides y el óvulo, 3) el tiempo de ovulación en relación con la IA. El tiempo calculado que se requiere para el transporte sostenido de los espermatozoides viables hasta el sitio de la fertilización varía de 6 a 12 horas, el periodo viable funcional de los espermatozoides en el tracto reproductivo de la hembra se ha calculado en 24 horas, mientras que la optima de fertilización para el óvulo se calcula es inferior a 10 horas.^{2,4}

La falla en la concepción o infertilidad es un problema importante en los hatos lecheros. En Estados Unidos se ha observado una clara reducción del porcentaje de concepción en los últimos cuarenta años; así en 1951 se lograba gestar 65% de las vacas servidas mientras que en el 2000 se obtiene menos del 40%.⁹ De 1994 a 2003 la producción anual de leche se incremento en 20% en México, la tasa de concepción a primer servicio disminuyó mientras que aumentó el número de servicios por concepción, hubo incremento en los días abiertos y en el porcentaje calculado de estros perdidos.²

En vacas altas productoras, hay una deficiencia en la producción de progesterona; por la reducción del tamaño de los folículos dominantes, como consecuencia se desarrollan cuerpos lúteos de menor tamaño; la consecuencia, menor producción de esteroides tanto en el folículo dominante como en el cuerpo lúteo, lo que puede arriesgar el mantenimiento de

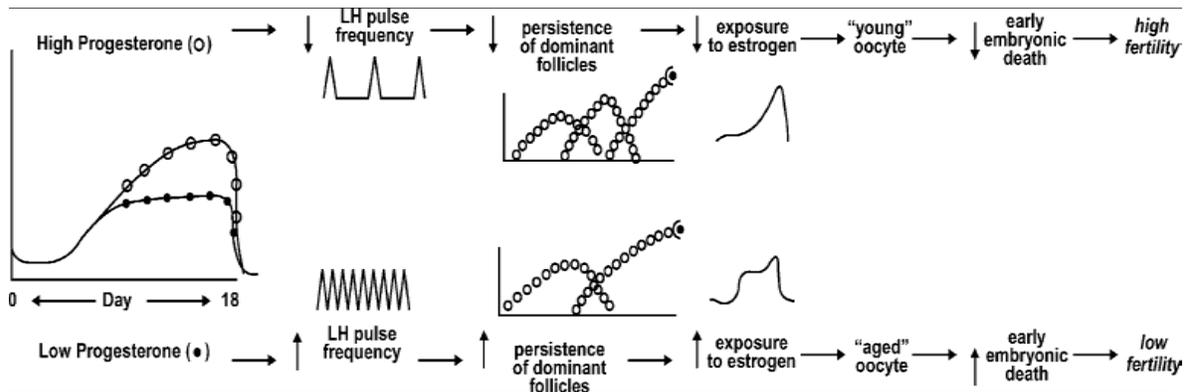
la gestación.^{10, 11} Se han asociado diversos factores con el porcentaje de concepción tales como, estatus metabólico (balance energético negativo), puerperio, días en leche, número de servicio, hato, momento de la inseminación, técnica de inseminación, semental, enfermedades tales como mastitis clínica y subclínica, endometritis subclínica, retención placentaria, fiebre de leche, piómetra, características de la dieta, estrés calórico y factores genéticos.¹²

La alta producción de leche incrementa el flujo hepático de sangre y la eliminación metabólica de progesterona y estradiol, esto podría producir menores concentraciones circundantes de progesterona y estradiol en vacas altas productoras por lo que al incrementarse la eliminación de estradiol después del establecimiento del estro esto contribuye a alterar la expresión del estro en vacas altas productoras, dando como resultado una mayor dificultad en la identificación de estos animales cuando están en calor.^{2, 3}

Se ha observado que cerca del 90% de los ovocitos son fertilizados después de la IA; sin embargo una alta porción de estas gestaciones se pierden. La muerte de los embriones antes del reconocimiento materno de la gestación (días del 16 al 19) se considera como muerte embrionaria temprana; la que ocurre entre el reconocimiento materno y el momento en que se ha completado la órgano génesis (alrededor del día 42) se denomina muerte embrionaria tardía, y la pérdida de la gestación posterior a los 42 días se llama muerte fetal.² La muerte embrionaria temprana contribuye con la mayor proporción de pérdidas de las gestaciones (40-60%), la muerte embrionaria tardía lo hace con 10-15% y la muerte fetal con 5-15%.²

13

Las tasas de concepción se reducen cuando, en el caso de un balance energético negativo, en vacas altas productoras, hay una deficiencia en la producción de progesterona; por la reducción del tamaño de los folículos dominantes, como consecuencia se desarrollan cuerpos lúteos de menor tamaño; la consecuencia, menor producción de esteroides tanto en el folículo dominante como en el cuerpo lúteo, lo que puede arriesgar el mantenimiento de la gestación.^{10, 14} La producción de leche, como tal, no influye en la fertilidad sino que son los factores asociados con el manejo intensivo en los hatos lecheros los que la determinan.⁹



Efecto de los patrones del desarrollo folicular en la fertilidad de la vaca.³

Para que ocurra la gestación, se debe establecer un diálogo entre el embrión en desarrollo y el ambiente materno. Se ha propuesto que uno de los factores que contribuye con la falla en la concepción es la incapacidad del embrión para evitar la regresión del cuerpo lúteo. De esta forma la inhibición de la cascada de la secreción de prostaglandina ($PGF2\alpha$), podría mejorar los porcentajes de concepción, ya que al embrión se le daría más tiempo para alcanzar el estado óptimo de desarrollo, que le permita establecer eficientemente el mecanismo de reconocimiento materno de la gestación. Éste es el principio de los tratamientos con GnRH o hCG durante los 5 -14 días post-inseminación, los cuales buscan disminuir los niveles de estradiol circundante mediante la ovulación, luteinización o atresia de los folículos.^{11, 15-21}

Varios métodos se han usado con la intención de aumentar la tasa de concepción a través de mayor concentración de progesterona en plasma durante la fase lútea, la formación de cuerpos lúteos accesorios aumenta la concentración de progesterona en plasma y mejora la tasa de concepción.^{12, 15} Santos et al., y Binelli et al., reportaron aumento en la tasa de gestación con la aplicación de hCG (hormona coriónica humana) antes del día 7 post-inseminación artificial.^{12, 15} Díaz, y Binelli et al., obtuvieron un mejoramiento en la tasa de concepción con la administración de hCG a una dosis de 1500 UI después de la IA.^{15, 16} La administración de progesterona, hCG y GnRH son usadas para prevenir las pérdidas prematuras de embriones y en general con la intención de mejorar la tasa de preñez.^{11, 15, 17} Dependiendo del estado del desarrollo folicular, la administración de hCG o GnRH induce

la ovulación y la luteinización de la onda siguiente en el desarrollo folicular, del folículo sensible a la fase lútea que continúa su crecimiento después de la ovulación del folículo dominante de los ciclos previos, esto resulta en la formación de un cuerpo lúteo inducido, que incrementa los niveles de progesterona y reduce las concentraciones de estradiol como el mecanismo folicular.^{11, 12, 15, 17-19} La administración de GnRH entre el día 11 y 13 después del servicio produce un marcado incremento en la tasa de gestación.^{11, 17-20} Willard et al., 2003 y Vásquez et al.2005 concluyen que la administración de GnRH antes del día 5 y 11 post-inseminación resulta en un mejor estado endocrino (incrementa la concentración de progesterona en suero) y aumenta la tasa de concepción en vacas.^{11, 17-19, 21}

e. OBJETIVOS E HIPOTESIS

HIPÓTESIS.- La aplicación parenteral de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH), Gonadotropina Coriónica humana (hCG) incrementa el porcentaje de gestación en vacas Holstein Friesian.

OBJETIVO DE LA TESIS.- Determinar si la aplicación parenteral de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH), Gonadotropina Coriónica humana (hCG) a los 9 días post-inseminación mejora el porcentaje de gestación cuando se utiliza en vacas Holstein Friesian.

f. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el rancho “Villa Maria” una explotación de Bovinos Productores de Leche, localizado en el Municipio de Teoloyucan, ubicado en la porción noroeste del Estado de México, entre los paralelos 99° 35' 05'' y 99° 43' 40'' de latitud norte y los meridianos 99° 10' 32'' y 99° 17' 25'' de longitud oeste con una altitud de 2290 metros sobre el nivel del mar. El municipio presenta un clima templado subhúmedo con lluvias en verano que varían de 600 a 800 mm anuales (INEGI, 1990). Es una unidad de producción altamente tecnificada y especializada en producción de leche. El establo cuenta con 530 vacas Holstein Friesian en producción. Todas las vacas fueron alimentadas con una dieta totalmente mezclada formulada para satisfacer los requerimientos de mantenimiento y lactación.

Se utilizaron 167 vacas Holstein Friesian que fueron asignadas al azar a cada grupo. El grupo 1(G1).- 100mcg GnRH, grupo 2 (G2).- 1500 UI hCG y grupo 3.- Control 2 ml solución salina fisiológica (SSF). La aplicación de los tratamientos se realizó a los 9 días después de la IA. La explotación se tiene establecido el programa AM – PM, esto significa que las vacas que sean detectadas en celo en la tarde y noche serán IA en la mañana siguiente (7 AM) y las que sean detectadas en celo en la mañana serán IA en la tarde o noche siguiente.⁴ El diagnóstico de gestación se realizó por palpación rectal del tracto genital, se basa en el aumento de tamaño del útero, particularmente del cuerno grávido, que produce asimetría de los cuernos uterinos, el aumento del tamaño del cuerno se relaciona con la producción y acumulación de líquidos fetales, la detección de la vesícula amniótica y del deslizamiento de la membrana fetal, a los 60 días post- inseminación, la palpación rectal es un método simple práctico, de aplicación precoz y económica, para la exploración interna del tracto reproductivo en general.²² El porcentaje de gestación fue definida como el número de vacas que quedaron preñadas divididas entre el número de vacas que fueron inseminadas.

Las variables dependientes fueron días a tratamiento y número de servicios, se analizaron mediante un diseño experimental al azar con diferente número de observaciones para lo

cual se utilizaron el procedimiento del modelo lineal general (GLM) y las medias fueron comparadas por el procedimiento de Fishers de diferencia de mínimos cuadrados con la opción PDIFF, utilizando el paquete Statistical Analysis System (1988).

Mediante la prueba de Ji cuadrada se analizó la variable de porcentaje de gestación entre cada grupo.

g. RESULTADOS

En el Cuadro 1 se presentan los datos relacionados con los días en que las vacas de cada uno de los grupos recibieron el tratamiento hormonal y el número de servicios correspondiente.

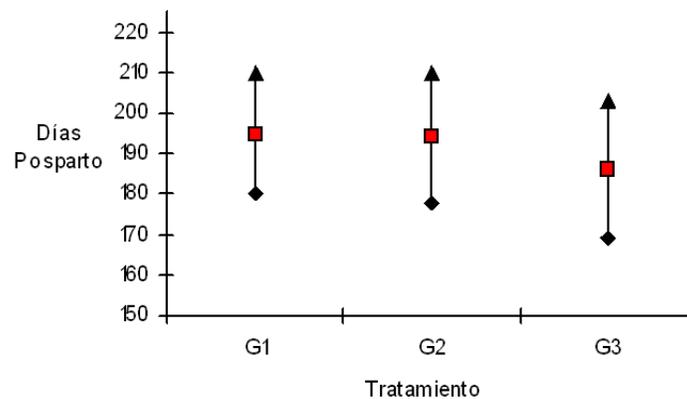
Cuadro 1.- Días al tratamiento y número de servicios por tratamiento.

Grupo	Número de vacas	Días al Tratamiento ($\mu \pm ee$)	Numero de servicios ($\mu \pm ee$)
G1	59	194 \pm 7.9	3.86 \pm 0.11
G2	57	193 \pm 8.06	3.96 \pm 0.11
G3	51	185 \pm 8.52	3.66 \pm 0.12

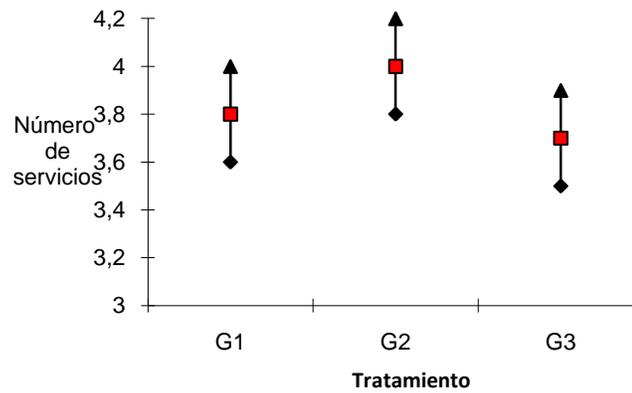
μ = media.

ee = error estándar

De manera general las 167 recibieron los diversos tratamientos a los 191.6 días, no existiendo diferencias entre cada uno de los grupos ($P < 0.10$) (Gráfica 1), y el promedio general del número de servicios correspondiente a tratamiento fue de 3.8 siendo similares entre cada uno de los grupos ($P < 0.10$). (Gráfica 2). Lo anterior es indicativo de que todas las vacas seleccionadas y asignadas a cada uno de los grupos se encontraban en condiciones similares.



Gráfica 1.- Días posparto al tratamiento



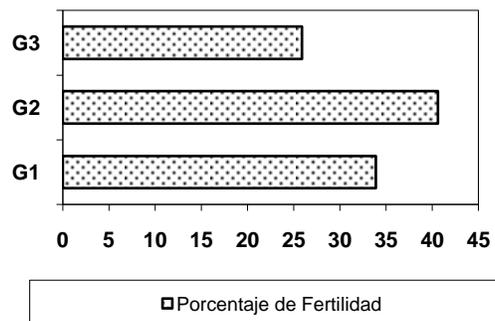
Gráfica 2.- Número de servicios al tratamiento

En el Cuadro 2 se presenta la información relacionada con el porcentaje de gestación obtenido en cada uno de los grupos después del tratamiento correspondiente.

Cuadro 2. Porcentajes de gestación por grupo de vacas

Grupo	No. de vacas	Vacas gestantes	% Gestación
G1	59	20	33.9
G2	57	23	40.6
G3	51	15	25.9

El porcentaje de gestación del total de vacas fue de 34.7 %, no detectándose diferencias estadísticas significativas ($P < 0.10$) entre cada uno de los grupos (Gráfica 3).



Gráfica 3.- Porcentaje de Fertilidad en vacas tratadas post-servicio

h. DISCUSIÓN

En el presente estudio no se encontró aumento en el porcentaje de gestación en vacas tratadas con GnRH y hCG en el día 9 post-inseminación con respecto al grupo testigo (33.9%, 40.6% y 25.9% respectivamente) lo cual concuerda con lo encontrado con Vásquez et al. (2005) quienes encontraron que tanto al día de la IA y el día 5 post-inseminación y el testigo (44.44%, 33.33% y 33.33% respectivamente) no ejercieron efecto benéfico sobre la tasa de preñez, Cruz et al. (2005) tampoco obtuvo efecto positivo sobre la tasa de concepción al aplicar GnRH a los 5 y 11 días post-inseminación con respecto al grupo testigo (12.1%, 14.7% y 11.8% respectivamente) Fantini et al. (2004) no encontró aumento significativo en la tasa de preñez en vacas tratadas con hCG en el día 7 post- inseminación con respecto al grupo control (40.62% y 23.33% respectivamente). Contrario a estos resultados Santos et al. (2001) encontró que el uso de hCG 5 días después de la inseminación mejora la tasa de concepción en comparación con el grupo control (hCG 47.8% y control 34.2%).

Las vacas repetidoras presentan bajas tasas de concepción debido a diferentes causas como anomalías en la ovulación, la obstrucción del oviducto, los óvulos anormales, las adhesiones ováricas, además de microorganismos en el útero y el cérvix, que han sido encontrados en el 56% de las vacas repetidoras.²³ Estos factores pudieron haber afectado la falta de resultados en este estudio ya que las vacas incluidas en el estudio tenían entre 3 y 4 servicios por lo que se puede pensar que el problema es aún más grave en las vacas repetidoras.

i. CONCLUSIONES

Se concluye que la aplicación de GnRH y hCG en el día 9 post-inseminación no mejoró el porcentaje de gestación en vacas Holstein Friesian. Sin embargo, es importante señalar que desde el punto de vista productivo y reproductivo la aplicación de hCG incrementó el porcentaje de gestación.

j. BIBLIOGRAFÍA

1. Ramírez GR., Segura JC. Comportamiento reproductivo de un hato de vacas Holstein en el noroeste de México. *Livestock Research for Rural Development*. 1992; 4; 2; 5 -9.
2. Dalton JC., Ahmadzadeh A., Chebel RC., Overton MW. Cómo elevar al máximo el desempeño reproductivo en los bovinos lecheros de alta producción. 22 conferencia internacional sobre ganado lechero. CIGAL 2006; CDROM.
3. Inskeep EK. Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *J Anim Sci*. 2004; 82: E24-E39.
4. Trimberger GW., Davis HP. Conception rates in cattle by artificial insemination at various stages of estrus. *Neb. Agrc. Exp. Sta. Res. Bull*. 1943; 129: 1-14.
5. Nebel RL., Dransfield MG., Jobst SM., Bame JH. Automated electronic systems for detection of oestrus and timing of IA in cattle. *Anim. Reprod. Sci*. 2000, 60: 713-723.
6. Varner M., Maatje K., Nielen M., Rossing W., Changes in dairy cow podometer reading with diferent number of cow in oestrus. En *Proc. 3rd Int. Dairy Housing Conf. Am. Soc. Agric. Eng. Orlando, MI, EEUU*. 1994; 434 – 442.
7. Pennington JA, Albright JL, Callahan CJ. Relationship of sexual activities in oestrus cows to diferent frequencies of observations and podometer measurements. *J. Dairy Sci*. 1986: 69: 2925-2934.
8. Maatje K., Loeffler SH., Engel B. Predicting optimal time of insemination in cow that show visual signs of oestrus by estimating onset of oestrus with podometers. *J. Dairy Sci*. 1997: 80: 1098-1105
9. Lucy MC. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end? *J. Dairy Sci*. 2001; 84:1277–1293.
10. Escalera PJL., Flores SF., Escobar MFJ. Efecto del balance energético negativo sobre el comportamiento reproductivo de la vaca productora de

leche. Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UAZ. Revista Veterinaria Zacatecas 2005; 2: 179-191.

11. Fantini FJC., Kozicki LE., Souza FP. Effect of human chorionic gonadotropin (hCG) on estrous cycle length and pregnancy rates in cattle. Archives of Veterinary Science 2004; 9 (2): 55-59.
12. Santos JEP., Thatcher WW., Pool L., Overton MW. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. J. Anim. Sci. 2001; 79, 2881-2894.
13. Hernández CJ. Causas y tratamientos de la infertilidad en la vaca lechera. Departamento de reproducción. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. UNAM. 04510. México, DF. No PLUBLICADO
14. Fricke PM. 14,000 Kg and Beyond - Current Benchmarks and Future Challenges for Dairy Cattle Reproduction. Advances in Dairy Technology 2004; 16: 9-22.
15. Binelli M., Machado R., Bergamaschi M., Buruselli PS. Actualizações sobre estratégias antiluteolíticas para o aumento da fertilidade em bovinos. 1e Simpósio internacional de reprodução animal aplicada Brasil 2006; 191 -198.
16. Díaz Z. Efectos de la ablación folicular sobre la folículo génesis. Universidad Central De Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Tesis 1998; 130- 145.
17. Fantini FJC., Kozicki LE., Souza FP. Induction of accessory corpus luteum by human chorionic gonadotropin (hCG) and the relationship with progesterone concentrations in cattle. Archives of Veterinary Science 2004; 9 (1); 115-120.
18. Rettmer I., Stevenson JS., Corah LR. Endocrine responses and ovarian changes in inseminated dairy heifers after and injection of a GnRH agonist 11 to 13 days after estrus. J. Anim. Sci. 1992; 70 (2): 508 – 517.
19. Vásquez DA., Basurto CH., Hernández PE., González MJ. Efecto de la hCG al inseminar o cinco días después sobre la tasa de preñez en vacas cebú. UNAM. Buiatria 2005; 248-249 cd-rom

20. Willard S., Gandy S., Bowers S., Graves K., Elias A., Whisnant C. The effects of GnRH administration postinsemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. *Theriogenology* 2003; 59 (8): 1799 – 1810.
21. Cruz VJ., Elizondo VC., Leyva OC., Favela RE., Ulloa AR., Fernández GI. Efecto del tratamiento con GnRH en el día 5 Y 11 post-inseminación durante el verano en vacas Holstein repetidoras. *Memorias buiatría Reproducción* 2005; 241 – 242 cd-rom.
22. Córdova AI., Pérez JFG., Muños RM. Diagnostico clínico de gestación en la vaca. *Acon. Lech.* 2002; 2 (10): 14-22.
23. Graden, AP., Durward O., Mochow CR, Mutter LR. Causes of fertilization failure in repeat breeding cattle. *J Dairy Sci.* 1967; 51:778-781.