

ADMINISTRACIÓN DE PULSOS DE GnRH A CERDAS LACTANTES Y SU EFECTO SOBRE EL ESTRO Y LA OVULACIÓN

Administration of GnRH Pulsatile to Lactating Sows and their Effect on Estrous and Ovulation

¹José Luis Ramírez, ²Nancy Cox y ²Alfred Moore

¹Universidad de Oriente, Núcleo Maturín-Monagas, Venezuela

²Mississippi State University, U.S.A.

RESUMEN

Un grupo de 10 cerdas primerizas mestizas de Landrace X Yorkshire o Hampshire amamantando un promedio de 9,3±1,2 lechones, fueron usadas para determinar el nivel de la administración continua de GnRH sobre el estro y la ovulación cuando se administran pulsos de 1,5 µg de GnRH. Cada hora, desde los 23 días de lactación hasta el inicio del estro o 24 h después de iniciado el mismo. Las cerdas presentaron el estro a las 123±7 h después de que el régimen de GnRH se inició. El régimen finalizó a las 0 h (n= 5) ó 24 h después del inicio del estro (n= 5). Muestras de sangre fueron obtenidas a intervalos de 12 h después del inicio del tratamiento con GnRH y a intervalos de 2 h, luego de iniciado el estro. La cuantificación hormonal fue realizada por medio de la técnica radioinmunoanálisis (RIA). Anterior al estro, las hormonas luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH) tuvieron un promedio de 0,6 ± 0,1 y, 0,4 ± 0,1 ng/ml, respectivamente. Los niveles preovulatorios de LH y FSH se mantuvieron por 18 h aproximadamente, retornando luego a menos de un ng/ml y no hubo diferencias significativas atribuibles a la duración de los tratamientos. Los niveles preovulatorios de las concentraciones de LH tendieron a ser mayores para las cerdas en el régimen de 24 h que en las cerdas del grupo a las 0 h (2,5±0,2 vs 1,9±0,3 ng/ml P<0,10). El intervalo al pico de la LH (2,8±0,8 h), desde el inicio de las inyecciones no fue afectado por los tratamientos. Las concentraciones máximas de FSH (0,8±0,2) en ambos grupos, ocurrieron a las 6,2±1,9 h después del inicio del tratamiento. El número de cuerpos lúteos verificados por laparotomía el día 14 posterior al estro fue 18,0±1,7 y, 17,4±1,7 para los tratamientos 0 y 24 h, respectivamente. En el grupo de cerdas en las cuales el régimen de GnRH duró hasta el inicio del estro, 3 de ellas presentaron quistes foliculares de ± 20 mm en diámetro. El intervalo al estro fue linealmente relacionado con

el número de lechones lactando (P<0,01, r= 0,82). La ecuación generada por esta relación fue $y = 34,01 + 9,59(X)$, donde y= horas al entro y X= número de lechones lactando. Se concluyó que una vez que en la fase del pro-estro los cambios hormonales han sido inducidos por la administración pulsátil de GnRH, los efectos durante la lactación (número de lechones e intensidad del amamantamiento), que normalmente bloquean la secreción de las gonodotropinas, no interfirieron con la secreción preovulatoria de las gonodotropinas (LH y FSH) y la tasa ovulatoria.

Palabras clave: Cerdas lactantes, GnRH, LH, FSH, tasa ovulatoria.

ABSTRACT

Ten pimplarous Landrace x Yorkshire or Hampshire sows nursing 9.3±1.2 piglets were used to determine whether induction of ovulation required continued of pulsatile gonadotropin-releasing hormone (GnRH) beyond the onset of estrus. Beginning at 23.8±0.3 d of lactation, all sows received 1.5 µg GnRH every h unit until onset of estrus, which occurred 123 ± 7 h after GnRH began. The GnRH was terminated either 0 (n=5) or 24 h (n=5) after on set of estrus. Blood samples were obtained at 12 h intervals after onset of estrus. Prior to estrus LH and FSH averaged 0.6±0.1 and 0.4±0.1 ng/ml, respectively. Concentrations of the LH preovulatory peak FSH surges lasted approximately 18 h, then returned to less than 1 ng/ml, and there were no treatment differences. Concentrations of the LH preovulatory peak tended to be greater for sows in the 24 h than in the 0 h group (2.5±0.2 vs 1.9±0.3 ng/ml, P<0.10). Interval from the onset of estrus to LH peak (2.8± 0.8 h) was not affected by treatment. Concentrations of FSH (0.8±0.2 ng/ml) peaked at 6.2±1.9 h. Number of corpora lutea present al laparotomy on day 14 post estrus was 18.0±1.7 and 17.4±1.7 for 0 and 24 h treatment groups. Three sows from 0 group had follicular cysts, 20 mm in diameter, and one had ectopic follicles.

Interval from the onset of treatment to estrus was linearly related to the number of pigs nursed ($P < 0.01$, $r = 0.82$). The equation for this relationship was $Y = 9.59x + 34.01$, where $y =$ hours to estrus and $x =$ number of pigs nursed. We conclude that once proestrous hormonal changes had been induced by pulsatile GnRH, lactational factors which normally suppress gonadotropin secretion did not interfere with preovulatory gonadotropin secretion and ovulation rate.

Key words: Lactating sows, GnRH, LH, FSH, ovulation rate.

INTRODUCCIÓN

La secreción de las gonadotropinas durante la lactación y después del destete han sido descritas para la cerda. Inicialmente, Melampy y col. [14], Crighton y Lamming [6] y, en investigaciones recientes De Rensis y Foxcroft [7], observaron que las concentraciones de la hormona luteinizante (LH) en la pituitaria anterior fueron bajas durante la lactación comparados con otros estados reproductivos. En contraste, concentraciones de la hormona foliculo-estimulante (FSH) en la pituitaria anterior disminuyeron siguiendo la ovulación [6]. Similarmente, concentraciones de LH y FSH en el suero son bajas durante lactación temprana, pero ellas aumentan en forma gradual durante el final de la lactancia y después del destete [20]. Los niveles más bajos de gonadotropinas durante la lactancia pueden ser debido a la supresión de GnRH, ya que aumentos en GnRH son correlacionados de manera temporal con mayores niveles de gonadotropinas y desarrollo folicular después del destete [3, 5].

Algunas evidencias indican que aunque aparentemente inactivos, ambos, el ovario y la pituitaria de la cerda, son competentes para desarrollar funciones endocrinas durante la lactación si reciben la estimulación adecuada. Estros fértiles han sido inducidos por inyecciones de PMSG y hCG [1, 12] y de hCG y GnRH [7, 11]. En estos estudios, inyecciones de GnRH fueron dadas cada hora hasta 24 h después del inicio del estro (por 4 a 6 d). No es conocido, si la administración de GnRH c/h puede ser innecesaria después de la liberación de las hormonas endógenas, las cuales promueven el estro.

Si la supresión de la producción de GnRH es una causa de anestros lactacionales, administración de GnRH en una dosis y frecuencia apropiada debería finalizar el anestro lactacional. En el presente estudio, cerdas en anestro lactacional recibieron bajas dosis de GnRH a intervalos frecuentes. Administración de GnRH en pulsos (frecuencias) fue escogida sobre la base de demostraciones que GnRH suministrada a una frecuencia de cada 1 h indujo el ciclo menstrual en monas amenorráicas y cerdas en anestro lactacional y administrada a una frecuencia de 2 h, aceleró la ovulación post-parto en vacas de carne amamantando [28]. El objetivo de esta investigación fue determinar si un régimen de administración de GnRH en pulsos cada 1 h hasta 24 h después de iniciado el celo es nece-

sario para garantizar la secreción preovulatoria de LH durante el amamantamiento en cerdas. En estudios previos esta dosis y frecuencia de GnRH siempre habían sido administradas hasta 24 h después del estro en un esfuerzo por asegurar que la secreción preovulatoria de LH ocurriera.

MATERIALES Y MÉTODOS

Manejo de los animales y toma de las muestras de sangre

Se utilizaron diez cerdas mestizas primerizas (188 ± 10 kg y de 14 a 16 meses de edad) a los $23,8 \pm 0,8$ de lactación. Las cerdas y sus camadas fueron mantenidas en jaulas individuales para maternidad, recibieron alimento a base de harina de maíz-soya, vitaminas y minerales, de acuerdo a las recomendaciones del National Research Council (NRC) [16].

Las camadas fueron estandarizadas entre 8 y 10 lechones por cerda, 48 h después del parto y les fue permitido mamar a voluntad. El d 23 de lactación (día 0 del experimento) las cerdas se canularon sin anestesia en la vena cava anterior. Aproximadamente, 2 h después de esta operación, todas las cerdas comenzaron a recibir GnRH ($1,5 \mu$) cada hora vía cánula hasta el inicio del celo (0 h; $n = 5$) ó 24 h ($n = 5$) después del inicio del estro, TABLA I. Las cerdas fueron asignadas a los tratamientos alternativamente basándose en el momento de inicio del celo, de tal forma que la capacidad para responder a GnRH fue similar y solo la duración del tratamiento de GnRH fue diferente. Las muestras de suero se obtuvieron de todas las cerdas a intervalos de 12 h desde el día 0 hasta el estro, o cada 2 h durante 24 h después del estro. Todas las cerdas fueron chequeadas para evaluar el estro 3 veces al d con un verraco, comenzando el 3er. d de la investigación. La tasa de ovulación y las características foliculares fueron confirmadas por ovariectomía aproximadamente 15 d después del inicio del estro.

Cuantificación hormonal

La concentración de LH en suero se midió a través de la técnica de RIA utilizando un anti-suero anti-porcino obtenido en conejos, que ha sido previamente validado [18]. La LH porcina purificada (LER 786-3) fue empleada tanto para curva estándar como para la hormona iodada. La recuperación de la masa añadida, reactividad cruzada, paralelismo entre las curvas del suero y las curvas de LH de las estándar y, la sensibilidad del análisis ($0,08$ ng LH), no fueron diferentes de las características reportadas previamente [18]. Todas las muestras se analizaron por duplicado en el mismo ensayo. El coeficiente de variación intra-ensayo fue de 6,5%.

La FSH en el suero fue medida por RIA usando suero FSH anti-porcino de conejo (USDA 1010-10) previamente validado [2]. La FSH porcina purificada (USDA-FSH-pp1) fue iodada y usada tanto para la hormona radioactiva como para la curva estándar. La recuperación de la masa añadida, reactivi-

TABLA I
**CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS Y REPRODUCTIVAS DE CERDAS MESTIZAS LANDDRACE x
 YORKSHIRE y LANDRACE x HAMPSHIRE ASIGNADAS A DOS TRATAMIENTOS CON GnRH**

Carácter	Tiempo al cual GnRH finalizó ^a (h)	
	0	24
No de cerdas	5	5
No de lechones nacidos vivos	10,2 ± 0,6 ^b	12,4 ± 0,8
Peso de la camada al nacer (kg)	10,5 ± 2,13	14,4 ± 1,2
No de cerdos destetados	8,8 ± 0,4	9,8 ± 0,7
Peso de la camada al destete (kg)	53,5 ± 4,5	55,6 ± 7,2
Días en lactación ^c	23,8 ± 0,8	23,8 ± 0,8
Horas desde el inicio del tratamiento hasta el inicio del estro	123 ± 5	123 ± 9

aDespués del inicio del estro. bMedia ± Error estándar. cAl comienzo del tratamiento de GnRH.

dad cruzada, paralelismo entre las curvas del suero y las curvas estándar de FSH y la sensibilidad del análisis (0,08 ng FSH) no eran diferentes de las características previamente reportadas [2]. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado en el mismo ensayo. El coeficiente de variación intra-ensayo fue de 8,2%.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron con un diseño de parcelas divididas por medio de un análisis de varianza apropiado para medidas repetidas en animales individuales [21]. La participación del error para la varianza entre y dentro de animales fue usada para evaluar fuentes de variaciones apropiadas. Las diferencias de los tratamientos (varianza entre animales) fue analizada por la participación del error como un término para cerdas dentro de los tratamientos [10]. Comparaciones de otras variables con solo dos medias fueron analizadas por la "t" apropiada para varianza homogénea y heterogénea [24, 25]. Análisis de regresión lineal fue empleado para examinar la relación existente entre la tasa de ovulación, tamaño de la camada, largo de la lactación, intervalo de GnRH al estro y el peso de la camada al destete [21].

RESULTADOS

Todas las cerdas tratadas con GnRH iniciaron el estro en un rango de 90 a 139 h después del comienzo de las inyecciones de GnRH.

Las tasas de ovulación fueron similares para los dos tratamientos, TABLA II. De las 5 cerdas a las que se le administró GnRH hasta el inicio del estro, 3 tuvieron quistes foliculares >10±2 mm de diámetro. La tasa de ovulación para el grupo de 24 h (17,3±0,3) no fue afectada por el número de lechones lactando, ganancia de peso durante lactación, o peso al destete

de las cerdas. El intervalo desde el inicio del tratamiento hasta el inicio del estro tuvo un promedio de 123h. El intervalo al estro estuvo linealmente relacionado al número de lechones lactando ($P < 0,01$; $r = 0,82$), la ecuación para esta relación fue $y = 9,59x + 34,01$, donde $y = h$ al estro y $x =$ número de lechones destetados.

La concentración de LH, FIG.1, disminuyó 12 h después del inicio de las inyecciones de GnRH ($P < 0,05$). Aproximadamente 96 h luego que las inyecciones de GnRH comenzaron, las concentraciones de LH alcanzaron el nivel de la secreción preovulatoria. Las concentraciones de FSH, FIG.2, alcanzaron un máximo a las 132 h, una vez que las inyecciones de GnRH comenzaron, pero no hubo diferencias en las concentraciones de FSH debido al tiempo transcurrido desde el inicio del tratamiento, FIG.2.

Los niveles de LH en el suero no fueron afectados por la administración continua de GnRH durante 24 h luego del inicio del estro. Aunque las concentraciones de LH tendieron a ser mayores para las cerdas que continuaron durante 7 h después del estro para las cerdas que recibieron GnRH hasta 24 h después del celo, FIG. 3. La restricción del análisis para incluir sólo este período no indicó diferencias entre tratamientos.

Las concentraciones preovulatorias de LH tendieron a ser mayores para cerdas las cuales continuaron recibiendo GnRH por 24 h después del inicio del estro más que para aquellas cerdas que sólo recibieron GnRH hasta el inicio del estro (2,5±0,2 vs 1,9±0,3 ng/ml). El intervalo desde el inicio de las inyecciones al pico de la secreción preovulatoria de LH (2,8±0,8) no sufrió ninguna modificación por los tratamientos.

Las concentraciones de FSH en el suero durante 25 h después del inicio del estro fueron similares entre tratamientos. Las concentraciones de FSH alcanzaron un nivel de 0,8 ng/ml a las 6,2±1,9 h una vez iniciado el estro, sin ser afectadas por los tratamientos.

TABLA II
TASA DE OVULACIÓN Y CARACTERÍSTICAS FOLICULARES ASOCIADAS CON LA ADMINISTRACIÓN DE GnRH
HASTA 0 ó 24 H DESPUÉS DEL INICIO DEL ESTRO

Carácter	Tiempo al cual GnRH finalizó ^a (h)	
	0	24
Tasa de ovulación ^b	18,0 ± 1,7	17,4 ± 1,7
No de cerdas con folículos quísticos ^c	3/5	0/5
No de folículos quísticos ^d	1,2 ± 0,5	0
Diámetro de los quistes (mm)	18,0 ± 0,3	N/A

^aDespués del inicio del estro. ^bNo de cuerpos lúteos 14 días después del estro. ^cFolículos mayores de 10 mm en diámetro. ^dPromedio para 3 animales.

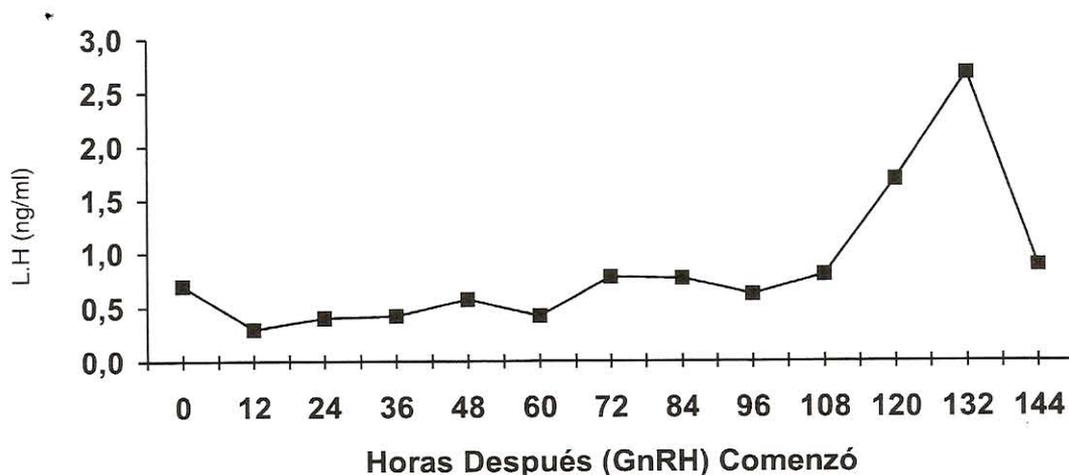


FIGURA 1. CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE LH EN EL SUERO DURANTE 144 H DESPUÉS QUE EL RÉGIMEN DE INYECCIONES (C/H) DE GNRH COMENZÓ. CADA PUNTO REPRESENTA LA MEDIA DE 10 CERDAS. ERRORES ESTÁNDAR TUVIERON UN RANGO DE 0,12 H DESPUÉS QUE LAS INYECCIONES DE GNRH COMENZARON (P<0,01)

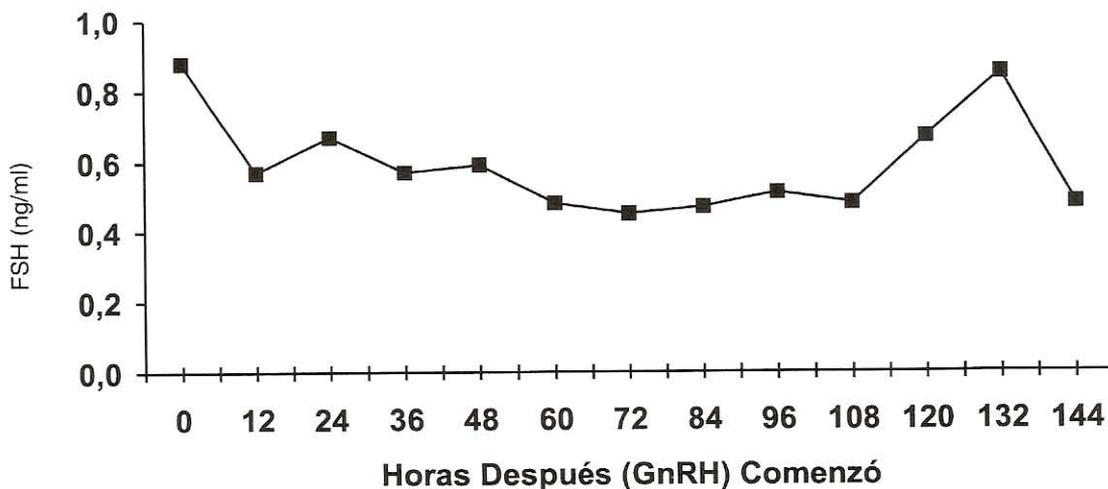


FIGURA 2. CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE FSH EN EL SUERO DURANTE 144 H DESPUÉS QUE EL RÉGIMEN DE INYECCIONES (CADA H) DE GNRH COMENZÓ. CADA PUNTO REPRESENTA LA MEDIA DE 10 CERDAS. ERRORES ESTÁNDAR TUVIERON UN RANGO DE 0,03 A 0,17 NG/ML.

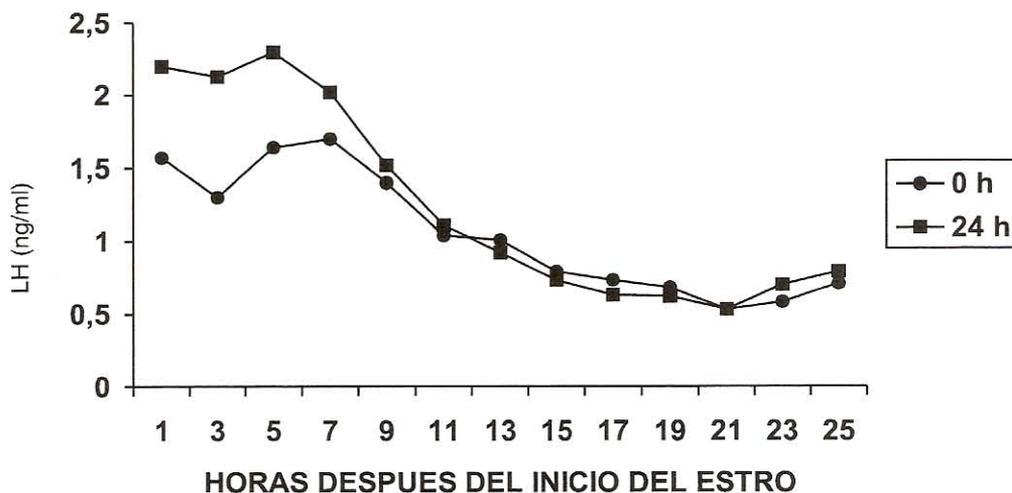


FIGURA 3. CONCENTRACIÓN PROMEDIO LH PARA CERDAS LAS CUALES RECIBIERON GNRH CADA H HASTA CUALQUIERA, COMIENZO DEL ESTRO 0; (N=5) Ó 24 H (N=5) DESPUÉS DEL INICIO DEL ESTRO. ERRORES ESTÁNDAR TUVIERON UN RANGO DE 0,04 A 0,9 NG/ML.

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio indican que el estro inducido y la ovulación en cerdas primerizas lactantes no fueron afectados al finalizar el régimen de GnRH impuesto hasta el inicio del estro. Estos resultados son consistentes con el hecho de que la exposición de los animales al régimen pulsátil de inyecciones de GnRH resultó en mecanismos hormonales, los cuales promovieron la secreción preovulatoria de la LH. Una vez que la secreción preovulatoria dio inicio, el régimen de GnRH no fue necesario para inducir el proceso de ovulación. Los estudios de Sesti y Britt [22, 23], Mao y col. [13] y, de De Rensis y Foxcroft [7], muestran evidencias directas importantes señalando que una secreción reducida de GnRH endógena a nivel del hipotálamo, es probablemente la primera causa de reducción en la secreción de LH a nivel de la pituitaria en cerdas lactantes. En sus inicios, Cox y Britt [3], observaron que el contenido de la GnRH hipotalámica en la cerda era mas bajo durante la lactación. En el presente estudio el régimen de inyecciones de GnRH se presume, reemplazó ese déficit en la GnRH; sin embargo, la LH fue mas dramáticamente afectada que la FSH. La FSH pudo ser controlada por algún factor (no esteroide) del ovario durante lactación, mientras que la LH se ha visto suprimida por el amamantamiento [26]. Aparentemente el amamantamiento juega un papel importante en la supresión de la LH durante la lactación, quizás como un mecanismo de prevenir la ovulación muy temprano después del parto. Con la LH, pero no la FSH, suprimida por el amamantamiento, el crecimiento folicular puede ocurrir, pero la continuidad en ese crecimiento es alterado y en algunos casos, inhibido.

Debido a que las características foliculares se evaluaron de manera visual (por Laparotomía 14 d después del celo) se especula la posibilidad que el régimen de GnRH empleado en

este trabajo, pudo haber inducido la formación de estructuras atípicas a nivel del ovario, tales como quistes foliculares observados en 3 de las 5 cerdas con régimen de GnRH hasta el inicio del celo, así como folículos luteinizados que con frecuencia producen progesterona por periodo prolongados. Sin embargo, recientemente Miller y col. [15], lograron reestablecer la actividad ovárica suprimida en cerdas primerizas con la administración de GnRH, sin alterar la dinámica del crecimiento folicular.

La presencia de cualquiera de estas estructuras a nivel del ovario pueden ser consistentes con el incremento sostenido de progesterona y el prolongado intervalo destete-estro, observado en cerdas lactantes tratadas con hCG (Armstrong y col. [1]), con el uso de hCG. Por lo general, la secreción preovulatoria de LH es precedida por un aumento de los niveles de estrógenos en el plasma, que en forma simultánea estimulan la secreción hipotalámica de la GnRH y aumentan la repuesta secretoria de los gonadotrofos a nivel de pituitaria [19]. El foco de acción del estrógeno parece ser la estimulación que hace a nivel de la expresión de los receptores de GnRH en gonadotrofos inactivos [8]. Estudios realizados por Neill [17] para evaluar la secreción de LH in vitro a nivel de los gonadotrofos revelan que parte del incremento en la repuesta secretoria fue debida al aumento en el número de éstos que adquirieron tal condición durante el proestro. El estradiol, al menos en parte, es responsable por el marcado aumento en la sensibilidad de la pituitaria, que ocurre durante el periodo del proestro. Aunque el estradiol no se evaluó en este estudio, Cox y Britt [3] reportaron elevadas concentraciones de estradiol en cerdas lactantes tratadas con GnRH, comparadas con las cerdas control, ambas durante la lactación y después que las camadas de las cerdas control fueron destetadas. Numerosos trabajos evidencian que los estrógenos están realmente involucrados en las manifestaciones del estro y la ovulación, en cerdas antes y

después del destete. Tanto Cox y col. [4] como Stevenson y col. [26], suministraron benzoato de estradiol a cerdas destetadas ovariectomizadas, encontrando que las manifestaciones del estro y las repuestas de LH y FSH eran similares a las observadas en cerdas intactas en el estro post-destete. Por otro lado, Cox y col. [5] y, Ramírez y col. [20], evaluaron al periodo de la lactación sobre la conducta del estro, LH y ovulación en cerdas lactantes tratadas con benzoato de estradiol y encontraron que los niveles de LH se incrementaron en la cuarta semana de la lactación indicando una repuesta positiva del mecanismo de retroalimentación atribuido al estradiol.

Datos de este estudio indican que la tasa de ovulación no fue afectada por el número de lechones lactando, ganancias de peso de los lechones durante la lactancia o peso al destete de los lechones. Sin embargo el intervalo desde el inicio del tratamiento al estro ($5,4 \pm 0,71$ d), fue linealmente relacionado con el tamaño de la camada. Se ha demostrado que entre el número de lechones amamantando y la ocurrencia del estro durante la lactación y después del destete, que es negativa. Cada lechón adicional mamando aumenta el intervalo destete-estro [9], cerdas cuyas camadas fueron reducidas de 8 a 3 lechones durante los últimos 5 d de lactación mostraron estro 1,1 d antes, comparadas con 4 d para las cerdas control [26]. En la presente investigación no fue impuesto ningún control sobre el amamantamiento, y las observaciones sobre comportamiento y modelo de amamantamiento no fueron tabuladas. Aparentemente la reducción del estímulo del amamantamiento de las camadas favorece una mayor estimulación de la secreción de las hormonas reproductivas por el hipotálamo, pituitaria y ovario, ó todos los tres órganos en un eje funcionalmente integrado.

El presente trabajo demostró que el protocolo de inyecciones pulsátiles de GnRH después del inicio del estro fue innecesario para inducir la ovulación; sin embargo, el nivel mínimo de administración pulsátil requerido para la inducción del estro y la ovulación, debería ser determinado con precisión, ya que la secreción de LH y FSH pudo ser igual a lo que ocurre en los bovinos [27, 28] y reguladas en forma diferente por la frecuencia y amplitud de los pulsos de GnRH.

En conclusión, la administración pulsátil de GnRH interrumpió el efecto inhibitorio de la lactación induciendo el estro y la ovulación; independientemente de sí la hormona fue administrada hasta el inicio del estro ó 24 h mas tarde. El cese del tratamiento de la hormona al estro no afectó la tasa ovulatoria, aunque algunas anomalías en los folículos estuvieron presentes. El efecto de la GnRH ocurrió a pesar de las diferencias hormonales probablemente involucradas (Ej. Prolactina, progesterona y estradiol). Aún cuando el intervalo al estro fue mas largo cuando las camadas contenían un lechón mas que el promedio, los factores involucrados en la lactación, los cuales por lo regular suprimen la secreción de gonadotropinas (LH y FSH), no interfirieron con la secreción preovulatoria de éstas y la ovulación, una vez que los cambios hormonales fueron inducidos por la GnRH administrada en forma pulsátil.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ARMSTRONG, T.A.; FLOWER, W.L.; BRITT, H.J. Control of the weaning-to-estrus interval in sows using gonadotropin and prostaglandins during lactation. **J. Anim. Sci.** 77: 2533-2539. 1999.
- [2] BOLT, R.; ROLLINS, R.; GUTHRIE, H.D. Development of a porcine FSH radioimmunoassay. **J. Anim. Sci.** 53 (Suppl 1 Abstract): 298. 1981.
- [3] COX, N.M.; BRITT, J.H. Pulsatile administration of gonadotropin releasing hormone to lactating sows: Endocrine changes associated with induction of fertile estrus. **Biol. Reprod.** 27: 1126-1137. 1982.
- [4] COX, N.M.; RAMÍREZ, J.L.; MATAMOROS, I.A.; BENNETT, W.A.; BRITT, J.L. Influence of season on estrous and luteinizing hormone responses to estradiol benzoate in ovariectomized sows. **Teriogenology.** 27: 395-404. 1987.
- [5] COX, N.M.; RAMÍREZ, J.L.; MATAMOROS, J.A.; BENNETT, W.A. Estrogen induces estrus unaccompanied by a preovulatory surge in luteinizing hormone in suckled sows. **Biol. Reprod.** 38: 592-596. 1988.
- [6] CRIGHTON, D.B.; LAMMING, G.E. The lactational anestrus of the sow: the status of the anterior pituitary-ovarian system during lactation and after weaning. **J. Endocrinol.** 83: 507-519. 1969.
- [7] De RENSIS, F.; FOXCROFT, G.R. Correlation between LH response to challenges with GnRH and naloxone during lactation, and LH secretion and follicular development after weaning in the sow. **Anim. Reprod. Sci.** 56:143-152. 1999.
- [8] DiGREGORIO, A.M.; TURZILLO A.M.; NETT, T.M. Regulation of numbers of receptors for gonadotropin releasing hormone (GnRH) and GnRH receptor in RNA by estradiol (E) in the absence of GnRH. **J. Anim. Sci.** (Suppl. 1 Abstract.). 77: 466. 1994.
- [9] FAHMY, M.H.; HOLTZMAN, W.B.; BAKER, R.D. Failure to recycle after weaning, and weaning to estrus interval in crossbred sows. **Anim. Prod.** 29: 193-198. 1979.
- [10] GILL, J.L.; HAFS, H.D. Analysis of repeated measurements of animals. **J. Anim. Sci.** 33: 331-336. 1971.
- [11] GUTHRIE, H.D.; PURSEL, V.G.; FROBISH, L. Attempts to induce conception in lactating sows. **J. Anim. Sci.** 47: 1145-1151. 1978.
- [12] HAUSLER, C.L.; HODSON, H.H.; KINNEY, D.C.; RANWOLF, T.J.; STRACK, L.E. Induced ovulation and conception in lactating sows. **J. Anim. Sci.** 50: 773-779. 1980.
- [13] MAO, J.; ZAK, L.J.; COSGROVE, J.R.; SHOSTAK, S.; FOX CROFT, G.R. Reproductive metabolic and endo-

- crine responses to feed restriction and GnRH treatment in primiparous, lactating sows. **J. Anim. Sci.** 77: 724-735. 1999.
- [14] MELAMPY, R.M.; HENRICKS, D.M.; ANDERSON, L.L.; CHEN, C.L.; SCHULTZ, J.R. Pituitary follicle stimulating hormone and luteinizing hormone concentrations in pregnant and lactating pigs. **Endocrinology** 78: 801-808. 1966.
- [15] MILLER, A.T.; PICTON, H.M.; HUNTER, M.G. Suppression of ovarian activity in the gilt and reversal by exogenous gonadotropin administration. **Anim. Reprod. Sci.** 54: 179-193. 1999.
- [16] NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutritional Requirement of Domestic Animals, N. 2 **Nutrient Requirements of Pigs**. National Academy of Science. Washington, D.C. 86 pp .1988.
- [17] NELL, J.D. GnRH regulation of LH secretion: cell and molecular studies. **J. Anim. Sci.** Suppl. 1 Abstract. 75: 54. 1997.
- [18] NISWENDER, G.D.; REICHERT JR., L.E.; ZIMMERMAN, D.R. Radio-immunoassay of serum levels of luteinizing hormone throughout the estrous cycle of the rat. **J. Endocrinology** 87: 576-582. 1970.
- [19] PARVIZI, N. Neuroendocrine regulation of gonadotropin in the male and the female. **Anim. Reprod. Sci.** 60: 31-47. 2000.
- [20] RAMÍREZ, J.L.; BENNETT, W.A.; COX, N. M. Effects of stage lactation in estrous behavior, LH and ovulation after administration of estradiol benzoate to sows. **J. Anim. Sci.** 61 (Suppl. 1 Abstract): 406. 1985.
- [21] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS) Users Guide Institute, Inc., Cary, N. C. Ver. 6.1. 851 pp. 1998.
- [22] SESTI, L.A.C.; BRITT J.H. Relationship of secretion of GnRH in vitro to change in pituitary concentration of LH and FSH and serum concentration of LH during lactation in sows. **J. Reprod. Fertil.** 93: 393-400. 1993.
- [23] SESTI, L.A.C.; BRITT J.H. Secretion of gonadotropin and estimated releasable pools of GnRH and gonadotropin during establishment of suckling-induced inhibition of gonadotropin secretion in the sow. **Biol. Reprod.** 50: 1078-1086. 1994.
- [24] SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. **Biometry**. The principle and practices of statistics in biological research. W. H. Freeman and Co., San Francisco. 452 pp. 1969.
- [25] STEEL, R.G.; TORRIE, J. **Principles and procedures of statistics**. 2nd. Ed. McGraw-Hill Book Co. New York, NY.: 58-66. 1980.
- [26] STEVENSON, J.S.; COX, N.M.; BRITT, J.H. Role of the ovary in controlling luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and prolactin secretion during and after lactation in pigs. **Biolog. Reprod.** 24: 341-353. 1981.
- [27] TAPONEN, J.; KATILA, T.; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, H. Induction of ovulation with gonadotropin releasing hormone (GnRH) during proestrus in cattle: Influence in subsequent follicular growth and luteal function. **Anim. Reprod. Sci.** 55: 91-105. 1999.
- [28] VISCARRA, J.A.; WATTEMANN R.P.; MORGAN G.L. Influence of amplitude, frequency and duration of infused GnRH pulses on secretion of LH, and FSH in beef cows. **J. Anim. Sci.**(Suppl. 1 Abstract.). 77: 467. 1994.