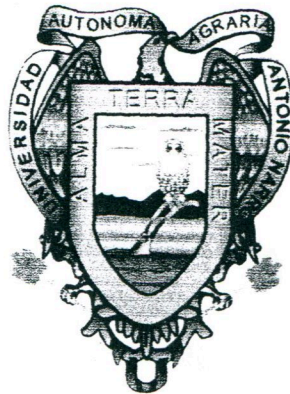


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**



**EFFECTO DE LA TERAPIA ESTROGÉNICA A LOS 13 Y 20 DÍAS  
POSTSERVICIO, SOBRE LA FERTILIDAD POSTINYECCIÓN Y  
PORCENTAJES DE VACAS VACÍAS AL DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN.**

**TESIS  
QUE PRESENTA**

**DELMAR AGUILAR MELÉNDEZ**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Torreón, Coahuila**

**Octubre de 2006**

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna  
División de Ciencia Animal

Efecto de la terapia estrogénica a los 13 y 20 días postservicio, sobre la fertilidad postinyección y porcentajes de vacas vacías al diagnóstico de gestación

Tesis

Delmar Aguilar Meléndez

Tesis elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y aprobada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Comité Particular**

**Presidente:**

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Carlos Leyva Orasma

**Vocal:**

  
\_\_\_\_\_  
M.C. Juan Luis Morales Cruz

**Vocal:**

  
\_\_\_\_\_  
Q.B.P. Margarita Yolanda Mendoza Ramos

**Vocal suplente:**

  
\_\_\_\_\_  
M.V.Z. Jesús Alfonso Amaya González

  
\_\_\_\_\_  
M.C. José Luis Francisco Sandoval Elías  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL  
DE CIENCIA ANIMAL

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A DIOS NUESTRO SEÑOR:**

Por darme le hermosa oportunidad de vivir y culminar una parte de mis sueños.

### **A MI ALMA, TERRA, MATER:**

Por ser la universidad quien permitió terminar mis estudios profesionales, por esto y mas gracias.

### **A MI ASESOR DR. CARLOS LEYVA ORASMA:**

Por todo el apoyo a lo largo de mi formación profesional, por la paciencia durante la elaboración de mi tesis, por los conocimientos transmitidos, por ser un buen profesor lleno de nobleza, por su apoyo y confianza, por ser ejemplo para mi y de muchos, gracias.

### **AL M.C. JUAN LUIS MORALES CRUZ:**

Por ser un gran profesor y un gran amigo, por toda la paciencia e incansable apoyo durante mi carrera. Gracias.

### **A MI JURADO:**

Dr. Carlos Leyva Orasma, M.C. Juan Luis Morales Cruz, Q.F.B. Margarita Y. Mendoza Ramos y M.V.Z. Jesús Alfonso Amaya González, por toda la dedicación y paciencia que tuvieron durante la revisión de este trabajo.

## **A TODO EL PERSONAL DEL ESTABLO AMPUERO:**

Por dame la oportunidad de realizar mí trabajo y por todo lo aprendido, gracias.

## **A MIS AMIGOS:**

Roony Miguel Villaseñor González, Juan Miguel Jimarez Martínez, Raúl Madrigal Cruz, Rafael Rodríguez Cenicerros, Juan José Espinosa Vargas, Alejandra Lara Escalera, Félix Castañeda Vázquez, Rolando Verdejo Contreras, Juan Pablo Espino Guerrero, Jonathan G. Martínez V., Anatolio Díaz Antonio, Gerardo Venegas, Juan Roberto Esteban Andrés, Juan Alfredo Pérez Toledo, Ciro W. Abdul García, Roberto Hidalgo Méndez, Juan Alfonso Gurrola Villa, Selma Elizabeth Batarse Moore, Vania Lorena Lizarraga Grimes, Cesar Castelan Morelos y los no mencionados.

Por todos los buenos tiempos y momentos vividos, por estar juntos en las buenas y malas, por su amistad gracias.

## **A MIS PRIMOS:**

Ing. José Guillermo Aguilar Mendoza, Jorge Mauricio Aguilar Mendoza, Lic. Mario Cesar Escobar Aguilar, Manuel Alejandro Aguilar Solís. Con los que he vivido muchos y hermosos momentos, por estar siempre conmigo y por su apoyo, gracias.

## **A TODA MI FAMILIA Y LAS QUE NO LO SEAN:**

Gracias por brindarme de alguna u otra manera su apoyo, gracias.

## DECICATORIAS

### A MIS PADRES:

Por darme la oportunidad de vivir, por ser unos padres de gran valía y ejemplo de muchos, por todo y mucho mas gracias.

**Sra. Caridad de la Luz Meléndez Espinosa**, por darme la vida, por todo el amor, cariño y confianza que has brindado durante toda mi vida, por todos y cada uno de los bellos momentos vividos, por el gran sacrificio que has hecho por vernos triunfar a cada uno de nosotros, te dedico no solo mi carrera, si no todo lo que he obtenido y obtendré durante mi vida profesional, se que no pagaré un solo grano de sal de lo mucho que me has dado, por todo esto y mas gracias madre mía por estar siempre conmigo.

**Sr. Delmar Aguilar Córdova**, por se mi padre, por todo el amor, cariño, confianza y apoyo que me has brindado, por ser un buen padre, por enseñarme a valorar todas y cada una de las cosas, ya que "enseñar no es una función vital, por que no tiene el fin de si mismo, la función vital es aprender" y he aprendido mucho de ti, por guiarme por el buen camino, por el trato que me diste en la vida que sin ello no hubiese sido nada, gracias por todo.

### A MIS HERMANOS:

Por tener en la vida una familia como pocos la tienen, por enseñarme tantas cosas, por todo el cariño que nos tenemos, gracias.

**Prof. Juan Raúl Aguilar Meléndez**, por ser mi hermano y amigo, por todo el amor y cariño que me brindaste, por tu apoyo incondicional, por ser mi ejemplo a seguir, por enseñarme muchas cosas que ni tú, te diste cuenta de lo mucho que aprendí de ti, bien dicen que el secreto de la educación es enseñar a la gente de tal manera que no se de cuenta de que está aprendiendo, hasta que es

demasiado tarde, hoy me doy cuenta de lo mucho que aprendí de ti, por ser una gran persona de carácter y de decisiones propias y precisas, por tener una mentalidad muy diferente a los demás, por que nunca te comparaste con nadie, por el sacrificio que hiciste por salir adelante a pesar de todos los tropiezos que hemos tenido, por luchar y ser alguien en la vida, por sacarme adelante, por ser mi brazo derecho, por todo el amor y cariño que te tengo gracias, espero seguir contando contigo en las buenas y malas. Te quiero.

**Sra. Esther de Jesús Aguilar Meléndez,** te agradezco el cariño, amor, confianza y apoyo que me has brindado en toda una vida, por ser una mujer que rompe esquemas por salir adelante, simplemente por ser como eres y ser parte de mí, te quiero mucho y por que tendré tu apoyo siempre, en las buenas y malas, gracias.

**Indira Aguilar Meléndez,** gracias por toda la confianza que has tenido en mí, gracias por brindarme siempre tu cariño, amor y apoyo, a pesar de lo mucho o poco que hemos vivido quiero que sepas que siempre has de contar conmigo en las buenas y malas, espero ser buen ejemplo para ti, que logres todos tus sueños y no te quedes a mitad de camino, en la vida siempre hay que plantearse objetivos y eso es parte de ti, por todo esto y mas gracias, te quiero.

#### **A MIS SOBRINAS:**

Por llenarme de felicidad desde el momento que llegaron a esta vida, por ser un motivo más por salir adelante, gracias.

#### **A MI TIO JULIO IGNACIO MELENDEZ ESPINOSA Y FAMILIA:**

Por ser una gran persona, por brindarme por mucho tiempo su apoyo y cariño, por todos y cada unos de sus consejos que aun llevo conmigo y llevaré por

siempre, por inculcarme hacer una buena persona, por el simple echo de ser mi tío y ser mi sangre, gracias.

### **A LA FAMILIA AGUILAR CAMPOSECO:**

Sr. Oscar Aguilar Argüello, Sra. Nelly Camposeco Molina, Sr. Oscar Alfonso Aguilar Camposeco, Ing. Lourdes Aguilar Camposeco, Sr. José Ramón Aguilar Camposeco, Lic. Cesar Eduardo Aguilar Camposeco.

Les dedico también, a todos y cada uno de ustedes por todo el apoyo y cariño incondicional que me han brindado, por todos los consejos que llevo siempre conmigo por todos los buenos momentos vividos, por que siempre he de contar con ustedes y ustedes conmigo, gracias, no se como agradecer tanto apoyo que me dieron durante esta gran etapa de mi vida, no se como pagárselos, han sido de gran soporte, para lograr este sueño, que tantos anhelamos en la vida y lo sostendré para que no se derrumbe, pues ha sido formado a base de esfuerzos y muchos deseos de salir adelante y con el hambre de ser alguien en la vida, es cuando me digo a mi mismo, que en la vida nunca estamos solos, siempre hay alguien que nos acomoda y ese alguien es Dios, nunca pensé llegar a tener tanto apoyo de ustedes, de veras gracias por todo, bien dice un gran pensador que la sabiduría suprema es tener sueños bastante grandes para no perderlos de vista mientras se persiguen, y yo tengo sueños grandes que perseguir para no defraudar la confianza tan enorme que han depositado en mí, y lo maravilloso de aprender algo es que nadie puede arrebatármelo, gracias por todo gracias por su confianza, gracias.

Agradezco a mis primos por darme consejos y por todos y cada uno de los momentos vividos y por su apoyo y cariño gracias, los quiero.

## **A MI COMPADRE:**

**Ing. José Guillermo Aguilar Mendoza:**

Quiero agradecerle a esta persona por todos los sabios consejos que he de llevar siempre conmigo, por el cariño que nos tenemos, por ser como un hermano mas para mi, por que siempre lo llevaré conmigo en todos los buenos y malos momentos que la vida me otorgue, por ser una persona muy inteligente, por que se sabe valer por si mismo y por que es un gran ejemplo a seguir para muchos, por lo que a logrado a base de gran esfuerzo y luchas incansables, y con mucho orgullo por ser mi primo. Gracias.

## **LA FAMILIA RODRIGUEZ LÓPEZ:**

Compadre gracias por brindarme tu amistad y ser una persona llena de nobleza y sinceridad, que enfrenta retos no importa de donde y como vengan, tu sales adelante a pesar de todos los obstáculos que encuentres en la vida, gracias por darme la hermosa oportunidad de entrar a tu familia y el gozo de ser padrino de un hermoso y cariñoso niño: Omar Alonso Rodríguez López, quien llevo siempre conmigo, espero ser buen ejemplo para él. Nunca olvides que entre mas obstáculos te encuentres en la vida, más legítima será la victoria, Dios los bendiga hoy y siempre.



## **RESUMEN**

Efecto de la terapia estrogénica a los 13 y 20 días postservicio, sobre la fertilidad posinyección y porcentajes de vacas vacías al diagnóstico de gestación

**POR:**

Delmar Aguilar Meléndez

Medicina Veterinaria y Zootecnia

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**ASESOR:**

Dr. Carlos Leyva Orasma

El objetivo de este trabajo fue valorar el efecto de la inyección intramuscular de bajas dosis de estradiol (1 mg) a los 13 y 20 días postinseminación artificial durante la época de verano, sobre la fertilidad en vacas que repiten el servicio postinyección y el porcentaje de vacas que resultan vacías al diagnóstico de gestación. Las 510 vacas seleccionadas fueron divididas en dos experimentos (Experimento 1 y 2) de 110 y 400 realizadas en verano e invierno.

Para los dos experimentos se seleccionaron vacas de 1er y 2do parto, con 1 a 2 servicios y tuvieron una condición corporal (C.C.) de 3 a 3.5, sin tomar en cuenta los días en leche. Los animales del experimento 1 se dividieron al azar en 2 subgrupos T1= Tratado (n = 55) y T2 = Testigo (n = 55) como se muestra en el cuadro 1, al cual se les aplicó por vía intramuscular 1mg de cipionato de estradiol en el día 13 postinseminación.

En el segundo experimento también se dividieron al azar en subgrupos, V1 = Tratado (n=100) y V2 = Testigo (n=100) al igual en invierno, donde: I1 = Tratado (n=100) e I2 = Testigo (n=100) al que se les aplicó por vía intramuscular 1mg del mismo producto a los 20 días postinseminación.

A los animales integrantes del experimento 1, se les extrajo una muestra de sangre por punción venicoccígea al momento de la inyección del estradiol y una segunda a los 13 días postinseminación solo a las vacas que repitieron. En este experimento se evaluó el comportamiento de los niveles de progesterona (P4) al momento de la aplicación estradiol en todos los animales que hayan o no repetido y también se evaluó la fertilidad del segundo servicio postratamiento.

En el experimento 2 se evaluó el porcentaje de vacas vacías al diagnóstico de gestación en la época de verano e invierno.

El análisis de estos resultados permiten concluir que la inyección de 1 mg de estradiol a los 13 días después del servicio de inseminación, incrementa significativamente ( $P < 0.05$ ) la fertilidad de las vacas que repiten después del tratamiento y cuando se aplica a los  $20 \pm 1$  días, disminuye significativamente las vacas vacías al diagnóstico de gestación sin afectar a la gestación en curso.

**Palabras clave:** diagnóstico de gestación, detección de estros, ECP, progesterona, eficiencia reproductiva.

# ÍNDICE

Contenido	Página
RESUMEN.....	i
ÍNDICE DE CUADROS.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Hipótesis.....	2
1.2 Objetivo general.....	2
1.3 Objetivos específicos.....	3
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
2.1 Ovogénesis y folículogenesis.....	4
2.2 Dinámica folicular.....	6
2.3 Factores de crecimiento y su función en la folículogenesis.....	8
2.4 Ovulación.....	9
2.5 Estrógenos.....	10
2.6 Progesterona.....	13

2.7 Efecto del estrés calórico sobre la reproducción.....	14
<b>III. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>18</b>
3.1 Descripción del área de trabajo.....	18
3.2 Descripción de los animales.....	18
3.3 Distribución de los animales.....	19
3.4 Variables analizadas del experimento 1 .....	20
3.5 Variables analizadas del experimento 2.....	20
3.6 Análisis estadísticos.....	21
<b>IV. RESULTADOS.....</b>	<b>22</b>
<b>V. DISCUSION.....</b>	<b>26</b>
<b>VI. CONCLUSION.....</b>	<b>30</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>31</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>32</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Contenido	Página
Cuadro 1. Descripción del experimento a los 13 días postservicio.....	19
Cuadro 2. Tasa de concepción de las vacas que repitieron en el experimento 1.....	22
Cuadro 3. Promedio de días desde el tratamiento con ECP al servicio subsiguiente 13 días postservicio.....	22
Cuadro 4.- Porcentaje de vacas vacías al diagnóstico de gestación en verano.....	23
Cuadro 5.- Porcentaje de vacas vacías al diagnóstico de gestación en invierno.....	24
Cuadro 6.- Promedio de días desde el tratamiento con ECP al servicio subsiguiente 20 días postservicio.....	24
Cuadro 7.- Promedio de días del tratamiento a la manifestación de estro en invierno.....	25

## ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	Página
Figura 1. Niveles de progesterona de la segunda muestra en vacas tratadas gestantes vs vacas gestantes testigo.....	23

## I. INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas más marcados en la eficiencia reproductiva de hatos lecheros, es la baja detección de estros, siendo este un factor limitante en la fertilidad de las vacas lecheras (Hisnant, *et al.*, 1999). Esto se acentúa en la época de verano, donde posiblemente por la reducción de la producción de estradiol, la intensidad del estro disminuye hasta 50%, en comparación con el invierno. El estrés calórico marcado, reduce en las células de la granulosa de los folículos, la actividad de la aromatasa, disminuyendo así los niveles de estradiol (Wolfenson *et al.*, 2000). El estradiol, se ha utilizado desde hace mucho tiempo para diferentes propósitos reproductivos en el ganado bovino, por ejemplo, como inductor de celos, como metafiláctico en el puerperio de vacas (González *et al.* 1995) en los esquemas actuales de sincronización de la ovulación para la inseminación a tiempo fijo (Thatcher *et al.* 2002 y Pancarci *et al.* 2002) y para el diagnóstico precoz de la no gestación (Gil *et al.* 1999) entre otros usos.

En segundo orden de ideas, en la Comarca Lagunera, el incremento de las vacas vacías al diagnóstico durante el verano, constituye un gran problema y es factor importante de grandes pérdidas económicas por el aumento de los días abiertos, junto con una disminución significativa de la fertilidad en los hatos lecheros de la región. Debido a lo anterior se han utilizado estrategias para disminuir esta problemática, como por ejemplo el uso de benzoato de estradiol, Macmillan *et al.* (1997) reportaron que cuando se aplica 1 mg de benzoato de estradiol a los 12, 13 ó 14 días después de la inseminación en vacas Holstein, se incrementaba una oleada folicular más durante el ciclo estral y esto está asociado con un incremento en la fertilidad en las vacas que repiten celo después de la inyección. Este mismo autor, plantea que hay un aumento en el número de días del ciclo estral de las vacas inyectadas, con relación a las no tratadas, posiblemente por el incremento de esa oleada folicular.

Los niveles de progesterona, se incrementan en las primeras 24 horas después de la aplicación de 1 mg de benzoato de estradiol, inyectado a los 13 días después del servicio (Burke, 2000). Se desconoce el comportamiento de los niveles de esta hormona, cuando se aplica estradiol 13 días postservicio en la fase medio luteal considerando, que se incrementa una oleada folicular extra al ciclo estral, valdría la pena valorar si el efecto de bajas dosis de de esta hormona, tiene influencia sobre la fertilidad en todos los hatos lecheros.

Aplicar estrategias para disminuir estos problemas, repercutirían en grandes ventajas económicas para la ganadería lechera, que sufren de los efectos indeseables del estrés calórico durante los meses más calurosos del año.

### **1.1 Hipótesis**

La inyección de 1 mg de estradiol a los 13 días después del servicio de inseminación, incrementa significativamente la fertilidad de las vacas que repiten después del tratamiento y cuando se aplica a los  $20 \pm 1$  días, disminuye significativamente las vacas vacías al diagnóstico de gestación sin afectar la gestación en curso en la época de verano e invierno.

### **1.2 Objetivo general**

Valorar el efecto de la inyección intramuscular de 1 mg de estradiol a los 13 y 20 días postinseminación artificial durante la época de verano e invierno sobre la fertilidad en vacas que repiten el servicio posinyección y el porcentaje de vacas que resultan vacías al diagnóstico de gestación..



### **1.3 Objetivos específicos**

- 1.3.1 Valorar el porcentaje de vacas vacías al diagnóstico de gestación.
- 1.3.2 Evaluar la fertilidad del estro inducido postinyección.
- 1.3.3 Comparar el porcentaje de vacas vacías al diagnóstico de gestación en verano e invierno.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Ovogénesis y folículogenesis

Cuando la hembra bovina alcanza su pubertad manifiesta cambios rítmicos en su conducta sexual (receptividad sexual), denominado celo o estro, los acontecimientos que comienzan en un celo y termina en el siguiente se le llama ciclo estral, el ciclo estral bovino tiene una duración de 21 días (entre 17-25), y se produce a lo largo del año por lo que se clasifica a las hembras bovinas como poliéstricas continuas (Hafez, 2000).

La ovogénesis comienza en la vida fetal con la división mitótica de las ovogonias, en determinado momento, estas células se transforman en ovocitos y comienza el proceso de meiosis, el cual permite tener una célula haploide capaz de ser fecundada llamada óvulo (Palma, 2005)

Mientras tanto, la folículogenesis permite tener un folículo preovulatorio o De Graff a partir de los folículos primordiales (Palma, 2005), la cantidad de folículos primordiales en bovinos al nacer puede ser de 130, 000 a 175,000 (Monniaux *et al.*, 1997). Los folículos primordiales, están formados por el ovocito rodeado de una capa de células foliculares planas (células pregranulosas) y por mecanismos intraováricos, no dependiente de gonadotropinas y entran al licor de folículos en crecimiento (Greenwald y Terranova, 1988) cuando un folículo entra en el grupo de crecimiento, este será conducido a la degeneración por atresia, proceso que afecta a casi la totalidad de los folículos o concluir en el proceso de ovulación (Blanco y Campo, 1997).

Aunque comúnmente se ha creído que la atresia puede ocurrir en cualquier estado del desarrollo, cuidadosos análisis de los patrones de crecimiento y atresia folicular han revelado que la atresia no es igual en todos los

estadios de desarrollo folicular. Al aplicar el concepto de generaciones celulares de la granulosa es evidente que la atresia es más marcada antes de los estadios finales del desarrollo. Por lo tanto, la atresia folicular ocurre en el transcurso de unas cuantas generaciones celulares de la granulosa, cerca del final del desarrollo folicular (Gallegos *et al.*, 2004)

Cuando las capas de las células de la granulosa se transforman de aplanada a cuboidal y la teca interna comienza su diferenciación y el folículo en desarrollo se le denomina folículo primario, su crecimiento hacia el siguiente estadio es el folículo secundario se completa por la proliferación de células de la granulosa, los folículos en estos dos estadios se describen colectivamente como preantrales. El estadio siguiente se caracteriza por la formación de una cavidad en el folículo y producción de líquidos a estos se les conoce con el nombre genérico de folículos antrales (Roche, 1996).

En el folículo antral comienzan a diferenciar estructuras que cumplen una función importante en la liberación de esteroides sexuales (estrógenos y andrógenos). Los folículos antrales tardíos es decir preovulatorios tiene otras funciones de carácter endocrino como las inhibinas y las activinas (Blanco y Campo, 1997).

Por lo tanto, la incidencia de atresia no se distribuye normalmente a lo largo del tiempo que dura el desarrollo folicular, sino que ocurre en un periodo corto y, específicamente, durante la generación celular que precede la penúltima generación de células. El hecho de que en algunas especies, como las ratas, el desarrollo folicular puede llegar hasta este punto en ausencia de gonadotropinas, sugiere que los estados foliculares anteriores al reclutamiento, son regulados por factores internos del ovario, más que por la interacción de la hipófisis con el hipotálamo (Hirshfield, 1991) . Sin embargo, se ha observado que los folículos no tienen la capacidad para continuar su desarrollo en los estadios finales de la generación celular, a menos que estos sean expuestos a señales específicas en

ese tiempo. Por tanto, el número de generaciones celulares de la granulosa que pueden ser alcanzadas sin señales especiales o soporte hormonal está positivamente correlacionado con el tamaño de los folículos ovulatorios. (Gallegos *et al.*, 2004)

## 2.2 Dinámica folicular

A la serie de procesos recurrentes de reclutamiento, selección y dominancia durante el ciclo estral de la hembra, regulados por una combinación de interacciones hormonales, factores de crecimiento, sistemas de comunicación celular y genes se les conoce como dinámica folicular (Roche y Boland, 1993)

El término reclutamiento es dado al crecimiento de folículos más allá del estadio en el cuál, la mayoría de ellos sufren atresia. Durante el reclutamiento, los folículos primordiales son reclutados como grupos, los cuáles han recibido una señal que les permite continuar su crecimiento y desarrollo. Dicha señal parece ser la elevación de la hormona folículo estimulante (FSH) en plasma, se ha reportado que ligeras elevaciones en FSH crean una segunda y tercera oleada folicular durante el ciclo (Fortune, 1994).

El número de folículos reclutados es usualmente más grande que el número de folículos ovulatorios para una especie dada. Sin embargo, solo un número específico de folículos ovulatorios de acuerdo a la especie, continúan su crecimiento por unos pocos días más y alcanzan el tamaño ovulatorio. Estos folículos son llamados "dominantes", porque una vez que ellos son seleccionados, inhiben el crecimiento y diferenciación de sus contemporáneos (folículos subordinados) y previenen el reclutamiento folicular (Turzillo y Fortune, 1993).

En el ganado bovino, no hay únicamente liberación de FSH el día de la ovulación que comienza la primera oleada folicular del ciclo, si no que también hay una ligera elevación de FSH en las demás oleadas foliculares del ciclo y en las oleadas que ocurren en los animales antes de la pubertad (Walters y Schallenberger, 1984).

Únicamente el número específico de folículos ovulatorios de acuerdo a la especie, continúa el crecimiento y en pocos días alcanzan su tamaño ovulatorio, llamándose a estos folículos dominantes, que de alguna manera previenen el crecimiento y maduración de los demás folículos subordinados y la continuación del mismo reclutamiento folicular (Fortune, 1994).

El folículo que es dominante en el momento de la lisis del cuerpo lúteo, llega a ser el folículo ovulatorio. No hay ninguna diferencia fundamental entre ciclos de tres ó dos oleadas; la duración de la fase lútea parece determinar, al menos en parte, el número durante el ciclo estral. Los ciclos estrales con tres oleadas tienen ligeras fases lúteas, pero significativamente más largas que aquellos ciclos con dos oleadas. Prolongar la fase lútea a través de tratamientos con progestágenos exógenos en vaquillas, inducen ciclos con 4 ó 5 oleadas foliculares, durante la gestación y en el periodo prepuberal también ocurren oleadas foliculares (Gallegos *et al.*, 2004).

Fortune (1994) hipotetiza que los folículos son reclutados por que hay un ligero incremento a la exposición de FSH circulante alrededor del tiempo cuando ellos podrían normalmente iniciar la atresia, es entonces cuando el folículo es seleccionado para la dominancia y por estar simplemente en el lugar exacto, en el momento preciso, es el mejor y el mas capaz para responder a la ligera elevación de FSH y continuar su crecimiento. Lo anterior parece ser crítico para el folículo dominante. De tal forma que la inhibición experimental de FSH durante ese tiempo es correlacionada con la disminución de su crecimiento. (Gallegos *et al.*, 2004).

## 2.3 Factores de crecimiento y su función en la foliculogénesis.

Los factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGFs) funcionan como moduladores de la acción de las gonadotropinas que actúan a nivel celular, estimulando la proliferación y diferenciación de las células de la teca y de la granulosa, estudios recientes indican que los IGF y especialmente el IGF-1 potencializa el desarrollo del folículo, pero no se han establecido diferencias claras en las concentraciones de IGF-1 entre los folículos dominante o subordinados. Sin embargo existe regulación múltiple de la actividad de IGF mediante proteínas ligadoras de IGF (IGFBP) que fijan y secuestran a la misma y se ha demostrado que existe mayor concentración de IGFBP en los folículos subordinados que en el dominante (Gallegos *et al.*, 2004).

Armstrong y Webb (1997) mencionan que el ovario es el mayor sitio regulado por la producción de hormonas IGFs en los mamíferos y no mamíferos, en bovinos las células de la granulosa de folículos preantrales expresan RNAm que codifica IGFBP-2 y receptores de IGF tipo 1. en porcinos las células de la granulosa que expresan RNA codifica IGFBP-3, las células de granulosa en bovinos no expresan IGFBP-3, sin embargo, la teca externa del folículo antral y el tejido estromal que rodea al folículo preantral, muestra ser el sitio rodeado por IGFBP-3 de expresión RNAm, por tanto se hipotetiza que IGF regula el crecimiento de folículos preantrales por mecanismos endocrinos durante el crecimiento temprano del folículo.(Armstrong. 2002, Wandji 2000).

Roche (1996) menciona que la sensibilidad de los receptores ováricos de gonadotropinas dependiente de IGF-1, conduce a la hipótesis que una disminución en la concentración plasmática de IGF-1 repercute negativamente en la sensibilidad de las células foliculares a las gonadotropinas, lo cual reduce la capacidad de esteroidogenesis folicular, la división de las células de la granulosa, la población folicular y además los folículos reducen su crecimiento por lo que puede comprometer la maduración folicular.

## 2.4 Ovulación

La ovulación ocurre en respuesta a una combinación de mecanismos fisiológicos, bioquímicos y biofísicos, que incluyen: Mecanismos neuroendocrinos y endocrinos, esteroides y prostaglandinas, mecanismos neuroquímicos y farmacológicos, mecanismos neuromusculares y neurovasculares, interacción enzimática. (Gallegos *et al* 2004), y un componente de reconocida influencia es la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LH-RH), ya que los cambios en las tasas de síntesis, liberación y degradación de esta hormona son factores adicionales que modifican su papel en la liberación de gonadotropinas hipofisarias (Diamond, 1993).

La comunicación regulada entre el ovario y el cerebro, asegura que signos neurales se manifiestan para la ovulación cuando el folículo ovárico está maduro, un componente esencial en este sistema de comunicación, es el estrógeno dependiente de la regulación de la síntesis de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) que procede a un pico preovulatorio de LH (Goodman, 1994), en otros estudios realizados por Petersen *et al.* (2003) para medir la hormona GnRH, se sugiere que el incremento en la liberación del pico preovulatorio de esta hormona (GnRH) por efecto de retroalimentación positiva producido por el estradiol, es lo que causa el pico preovulatorio de LH, sin embargo esto aun es controversial, pues la neuronas GnRH no expresan estrógenos o receptores a andrógenos como podría pensarse.

La regulación del sistema GnRH por retroalimentación positiva del estradiol parece ser mediado transinápticamente, estos hallazgos conducen a la hipótesis de que el estradiol regula las neuronas GnRH indirectamente a través de algunos neurotransmisores y sistemas moduladores, por lo que es posible que la retroalimentación negativa y positiva en las neuronas GnRH, pueda ser mediada por diferentes neurotransmisores que inhiben o estimulan las células de GnRH, dependiendo de los niveles de estradiol en ambos casos (Kalra, 1993).

Las concentraciones séricas de progesterona son muy bajas durante el proestro y estro, lo cual es un prerrequisito para el comportamiento estral, pues esta hormona es un claro inhibidor del comportamiento estral. La función del estradiol y la progesterona parecen tener un efecto de todo o nada en la inhibición del estro, cuando el incremento de los niveles de progesterona rebasa el umbral y el estro es inhibido, incluso las concentraciones de estradiol existen para inducir el estro. Es decir, la acción de progesterona tiene prioridad sobre el estradiol en el control del comportamiento (Allrich, 1993).

Después de la ovulación se produce la formación del cuerpo lúteo (CL) cuya principal función es secretar progesterona, hormona esencial para el desarrollo del útero y necesaria para la implantación y mantenimiento de la preñez, el cuerpo lúteo se forma a partir de la ruptura producida por el folículo, existiendo un desdoblamiento en los tejidos que rodea a las células de la granulosa y teca del sistema vascular sanguíneo que deben respaldar el crecimiento y diferenciación celular. A pesar de que las células dominantes son las granulosas, las de la teca también contribuyen significativamente en la composición de la estructura, el proceso que las células de la granulosa sufren durante los cambios de secreción de estrógenos a progesterona (luteinización) se inicia al comenzar la secreción pre-ovulatoria de LH y se acelera con la ovulación (Márquez *et al.*, 1997).

## **2.5 Estrógenos**

Las sustancias con actividad estrogénica se encuentran tanto en animales como en plantas y por lo menos ocho estrógenos son secretados por el ovario. La liberación de los estrógenos en el ovario se realiza por la teca interna y en las células de la granulosa, formando parte del licor folicular el cual mediante la difusión pasa a la circulación sanguínea provocándose los síntomas externos e internos del celo. En la síntesis de esta hormona se presenta un fenómeno que ha dado función a dos células de gonadotropinas tanto en hembras como en



machos, donde la LH estimula las células de la teca de los folículos para secretar progesterona, y luego la testosterona sufre un proceso de aromatización hasta convertirse en estradiol, en las células de la granulosa bajo influencia de la FSH (Diamond, 1993). Este modelo llamado gonadotropinas de dos células es similar al del tejido testicular, en el cual la LH estimula la producción de testosterona en las células de Leydig y la FSH estimula la aromatización de la testosterona hasta convertirlos en estrógenos en las células de Sertoli de los túbulos seminíferos (Diamond, 1993). Estas hormonas esteroidales son producidas en la hembra durante el ciclo estral, durante la foliculogénesis, donde a partir de células tecales producen andrógenos, los cuales son transformados a estrógenos por la P450 aromatasa que es la proteína responsable del cambio de testosterona a estradiol (Cheryl *et al.*, 2001; Fortune *et al.*, 2004; Ginther *et al.*, 2001)

Los esteroides foliculares son productos derivados del colesterol que se producen por una de tres posibles vías: a) colesterol preformado, tomado de la sangre, principalmente en la forma de lipoproteínas circulantes, b) colesterol preformado almacenado dentro de las células ováricas o como colesterol libre, un constituyente de las células de la membrana, o por ésteres de colesterol almacenado dentro del citoplasma como gotas de lípidos y c) colesterol sintetizado nuevamente en las células ováricas de componentes de 2 átomos de carbono derivado del metabolismo de carbohidratos, grasa o proteínas dentro de la célula. La utilización de cada una puede estar sujeta a regulación con la importancia cuantitativa de una u otra vía variando con el estado fisiológico (Fortune *et al.*, 2004; Knobil y Neill, 1994).

Existen diferentes tipos de estrógenos en mamíferos de los cuales los más conocidos son:  $17\beta$  estradiol,  $17\alpha$  estradiol, estradiol,  $16$  epiestrol,  $16$ -hidroiestrol, aquilina e hipulina, en la cual la mayoría de ellos presentan compuestos más o menos desactivados o con muy baja actividad, el precursor de las hormonas esteroides es el acetato y luego el colesterol, respectivamente  $\Delta^5$ -pregnolón las que crean a través de fermentos aromáticos la base de la

formación de  $17\beta$ - estradiol,  $17\alpha$  estradiol y el estrón, planteando además que dicha formación no esta limitada solo al folículo ovárico, si no que también puede originarse en cierta cantidad tanto en las glándulas del cuerpo lúteo, en las glándulas suprarrenales y en los testículos fundamentalmente mas marcados en verracos (Diamond, 1993).

Las concentraciones de estradiol son bajas a través del ciclo estral, con tres picos que se corresponden con las tres ondas de desarrollo folicular, el primero es un pequeño pico que se produce alrededor del día 6 del ciclo, asociado con un folículo grande, cuando termina la primera onda de desarrollo folicular; sobre el significado fisiológico de este pico, se especula sobre su relación con el transporte del huevo dentro del útero. El segundo pequeño pico se produce alrededor del ciclo y se piensa que puede estar relacionado con la inducción de receptores de oxitocina en el útero, para la subsiguiente luteolisis (Brito, 2003).

La influencia de los estrógenos en los órganos periféricos se conoce desde hace tiempo, no solo influyen en los órganos sexuales secundarios, sino además en los órganos tubulares, que antecede a la fase progestativa, necesaria para la anidación del óvulo fecundado. Otras funciones son los cambios en el parénquima de la ubre, influyen también en la libido aumentándolo durante el celo, actúan también en el crecimiento de los huesos intensificando el desarrollo de las apíffisis, fomentan la retención del P, Na y Ca en el organismo, estimulan la formación de la hormona tirotrópica (STH) lo que se aprovecha en forma práctica en la engorda de animales (Ortuño, 1994).

## 2.6 Progesterona.

También conocida como hormona del cuerpo lúteo pues es donde se origina y de modo similar a los estrógenos, también en los testículos y glándulas suprarrenales, siendo químicamente un cetoesteroide que se supone que es un interproducto de la biosíntesis de los corticoides adrenales y de los andrógenos (Brito, 2003). La biosíntesis es similar a la de los esteroides sexuales los cuales se desarrollan a partir del colesterol y de la delta-5-pregnenolona, incluyendo la participación de la vitamina A, C y E la mayor cantidad de esta hormona se encuentra en el cuerpo lúteo de la vaca en la fase luteínica en la siguiente proporción en un gramo de tejido luteínico 26 microgramos el día 7 del ciclo, 65 microgramos el día 12, 45 microgramos en el día 15 y 7 microgramos el día 17 del ciclo y se plantea que los niveles de progesterona sanguínea aumentan durante los días 4 y 13 del ciclo de los 4 ng/ml a 10 ng/ml y disminuyen rápidamente desde el día 16 a los niveles normales de 1 ng/ml del suero sanguíneo durante el celo (Diamond, 1993; Márquez *et al.*, 1997).

En la hembra bovina el cuerpo lúteo es el principal lugar de producción de progesterona y su regresión se produce antes de iniciarse el parto (Sacristán, 1995) esta hormona también es producida en la placenta de algunos animales, pero en determinadas especies como la yegua y oveja, la producción de esta hormona al final de la gestación es de gran importancia e incluso sustituye a la producida por el cuerpo lúteo. De igual forma se encuentra progesterona, en pequeñas cantidades, en la corteza adrenal y en el testículo, probablemente por constituir un intermediario de los corticoides adrenales y de la testosterona (Brito 2003).

En los carnívoros la placenta no secreta progesterona, excepto en la gata al final de la gestación. La progesterona constituye un factor de primera necesidad para el mantenimiento de la gestación. Después de producida la

fecundación, esta hormona inhibe la actividad contráctil en el útero y estimula el desarrollo de sus glándulas (Brito, 2003).

Las concentraciones de progesterona son mucho más altas en la grasa de la leche que en plasma sanguíneo, Consecuentemente, los análisis de grasa de la leche proporciona una extensa distribución de los niveles de progesterona e incrementa las posibilidades de diagnósticos de la misma, especialmente si los niveles de progesterona se miden al momento de la inseminación artificial donde se supone que los niveles de progesterona son muy bajos. (Waldmann *et al.*, 2001).

Por otro lado la exposición crónica al estrés calórico (estacional) afecta en la producción de progesterona. Estas observaciones son consistentes con estudios *in vitro*, en los cuales se encontró que la producción de progesterona por células lúteas colectadas de vacas durante el verano, es menor a la secretada por células colectadas en invierno. Estas observaciones permiten involucrar a la función lútea dentro de las causas de la baja fertilidad debida al estrés calórico, ya que las anomalías de función del cuerpo lúteo están asociadas con la falla en la concepción (Hernández, 2005).

## **2.7 Efecto del estrés calórico sobre la reproducción**

El estrés calórico (EC) es un factor de importancia que es considerado como una de las principales causas de la baja de fertilidad en las vacas lecheras en muchos países y aún cuando en algunos establos se utilizan sistemas modernos de enfriamiento, los índices de fertilidad siguen permaneciendo bajos durante la época del año con temperaturas ambientales más elevadas (Wolfenson *et al.*, 2000).

El estrés calórico, resulta cuando las vacas lecheras se exponen a ambientes calientes o húmedo y caliente lo cual produce reducción en la

producción de leche e incrementos en los costos de la vaca (West,1994). Cuando la temperatura ambiental excede los 27°C con una humedad baja, las vacas están por encima de la zona de confort o zona termoneutral (Amstrong, 1994).

El índice de temperatura y humedad (THI) se utiliza para medir el grado de estrés calórico en el ganado lechero, el cual se mide por la siguiente fórmula, tomando en cuenta la temperatura y humedad promedio del día:  $THI = (1.8 \times db + 32) - (0.55 - 0.55 \times RH) \left( (1.8 \times db + 32) - 58 \right)$  en donde: db es un bulbo seco y expresa la temperatura en °C y RH esta humedad relativa expresada en porcentaje. Se considera que cuando el valor del THI excede las 72 unidades, las vacas lecheras se encuentran bajo condiciones de estrés calórico (Ingraham *et al.*, 1974).

El ganado lechero es susceptible a las altas temperaturas ambientales y la capacidad de termorregulación de estos animales en esta etapa es insuficiente, lo cual ocasiona un incremento de la temperatura hasta 41°C, afectando en primer lugar la función celular (Hernández, 2005) y la fertilidad, ya que durante la época de verano el porcentaje de concepción desciende un 40%, obtenido en los meses templados o fríos del año, hasta 15% durante el verano (Cavestany *et al.*, 1985). Se ha observado que el aumento en la producción de leche se refleja en un incremento de la generación de calor metabólico, que se ha asociado con el aumento del peso vivo de las vacas lecheras. De esta forma, vacas más grandes tienen un mayor aparato digestivo, lo que les permite consumir y digerir mayor alimento. Durante el metabolismo de los nutrimentos se genera calor, el cual contribuye con el mantenimiento de la temperatura corporal, condición favorable en climas fríos.(Hernández, 2005).

En un estudio realizado por Palta *et al.*, (1997) encontraron que las concentraciones plasmáticas de inhibina son bajas en vacas bajo estrés calórico, además las concentraciones plasmáticas de FSH fueron altas durante el periodo

preovulatorio durante el verano, mientras que las concentraciones de FSH en el ganado bovino es incrementada bajo estrés calórico, lo que quizás se deba a una disminución en la producción de inhibina plasmática. La selección de folículos, la duración de las ondas folículoares, la calidad del oocito y la esteroidogénesis folículoar son afectados por el estrés calórico además de reducir el grado de dominancia del folículo preovulatorio, por lo que los folículos subordinados de talla media sobreviven. Por tanto la duración de la dominancia del folículo preovulatorio es incrementada durante el verano, lo que es negativamente correlacionado con la fertilidad. Cuando la dominancia folículoar es reducida, mas de un folículo subordinado puede desarrollarse (Roth *et al.*, 2000) lo cual reduce el grado de dominancia folículoar, pues afecta el desarrollo del mismo, permitiendo que se desarrollen folículos grandes adicionales, lo cual permite incrementar el porcentaje de partos dobles (Wolfenson *et al.*, 1995).

La regulación de la actividad ovárica se da a partir de la hormona GnRH del hipotálamo, la LH y FSH en la glándula pituitaria anterior, se han hecho diversos estudios para medir el efecto del estrés calórico en la secreción de estas hormonas, pero no hay cambios en las concentraciones de estas hormonas (Rensis y Scaramuzzi, 2003).

Por esta razón, Gilad *et al.* (1993) mencionan que las diferencias son debidas a la relación de los niveles preovulatorios de estradiol, pues la amplitud de los picos pulsátiles de LH y GnRH disminuyen en las vacas con pocas concentraciones de estradiol plasmático, pero no en vacas con bajas concentraciones de estradiol. Por otro lado, altas dosis de estradiol pueden neutralizar los efectos de estrés calórico, ya que los mecanismos neuroendocrinos que controlan la secreción de gonadotropinas son mas sensibles al estrés calórico cuando las concentraciones de estradiol son bajas (Rensis y Scaramuzzi, 2003).

En los meses calurosos, la duración y la intensidad de los estros en vacas lecheras se ve reducida, un ejemplo muy claro es que durante el verano la actividad motora y las manifestaciones de estro se ven reducidas, además la incidencia de anestros y ovulaciones sin estro es incrementada (Nobel *et al.*, 1997).

El EC también puede afectar la función del aparato reproductivo al afectar el flujo sanguíneo. El incremento de éste en el útero inducido por el estradiol se redujo en vacas lecheras y ovejas a consecuencias del EC. Tal reducción en el flujo sanguíneo del útero pudiera elevar la temperatura uterina y afectar la disponibilidad de agua, electrolitos, nutrientes, hormonas y factores de crecimiento en el útero. (Arechiga, 2005).

El estrés calórico (EC) causa una reducción en el peso del tejido lúteo y el tamaño del conceptus y este retardo en el crecimiento embrionario en el día 8-16 de la gestación compromete la habilidad de los embriones de producir cantidades suficientes de interferón- $\tau$  (IFN- $\tau$ ) u otros productos celulares necesarios para el reconocimiento materno de la gestación. El estrés calórico también puede incrementar la liberación de PGF $2\alpha$  y promover la luteólisis. La exposición de endometrio en cultivo desde el día 17 del ciclo estral incrementó la síntesis de PGF $2\alpha$ . Incluso, el estrés calórico incrementó la secreción uterina de PGF $2\alpha$  inducida por la oxitocina en el día 17 del ciclo estral en vacas lecheras en plena lactancia (Arechiga, 2005).

La progesterona es afectada por el EC, sobre este tema existe discrepancia ya que los efectos de esta hormona son variables, pues en veces hay aumentos y en otras disminución en la concentración de la misma en vacas ciclando expuestas al EC, estas variaciones podrían deberse al uso y consumo del agua, en respuesta a este aumento de temperatura ambiental, otra explicación pudiera deberse a un desequilibrio en la redistribución del flujo sanguíneo en condiciones de EC (Arechiga, 2005).

### III. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1 Descripción del área de trabajo

La presente investigación, se llevó a cabo en el establo Ampuero localizado en el Km 6.5 de la carretera Torreón-Mieleras del municipio de Torreón Coahuila, situado en la latitud 26° Norte y una altitud de 1,400 metros sobre el nivel del mar. La temperatura promedio es de 23.4 °C, siendo la temperatura máxima de 40 °C en junio y la mínima de -3 °C en diciembre; la precipitación pluvial promedio anual es de 230 mm<sup>3</sup> (Comisión Nacional del Agua, 2006; Schmidt, 1989). El establo cuenta con una población total de 2500 animales, en sistema intensivo, de las cuales 1855 están en producción, teniendo un promedio diario de 30.02 litros por vaca, llevándose a cabo 3 ordeñas diarias.

#### 3.2 Descripción de los animales

El estudio se realizó durante la época de verano e invierno, utilizándose 510 vacas Holstein Friesian, cuyas condiciones de peso corporal oscilaron entre 500-600 kg, con un buen estado de salud. Las vacas fueron alimentadas a libre acceso en base a una dieta con una proporción de forraje/concentrado 48.5/51.5, respectivamente, el alimento se les proporciono por la mañana, tarde y noche coincidiendo con el horario de las ordeñas, con un consumo de materia seca de 25.0 kg. por vaca por día. En contenido de la ración por cada kg fue de 17.4% de proteína cruda, energía 1.7 megacalorías, extracto etéreo 8.8%, fibra neutro detergente (FND) 27.1%, calcio 1.0% y de fósforo 0.4%.



### 3.3 Distribución de los animales

Las 510 vacas seleccionadas fueron divididas en dos experimentos que se realizaron en verano e invierno (Experimento 1 y 2) de 110 y 400 realizados animales respectivamente.

Para los dos experimentos se seleccionaron vacas de 1er y 2do parto, con 1 a 2 servicios y tuvieron una condición corporal (C.C.) de 3 a 3.5, sin tomar en cuenta los días en leche. Los animales del experimento 1 se dividieron al azar en 2 subgrupos T1= Tratado (n = 55) y T2 = Testigo (n = 55) como se muestra en el cuadro 1, el cual se les aplicó por vía intramuscular 1mg de cipionato de estradiol en el día 13 postinseminación.

Cuadro 1. Diseño del experimento1 realizado en la época de verano.

Grupos	No. de animales	Día 13 postinseminación
T1	55	1 mg ECP
T2	55	No inyección

En el segundo experimento se realizó en dos estaciones (verano e invierno) el cual también se dividieron al azar en subgrupos, verano = V1 = Tratado (n=100) y V2 = Testigo (n=100) y en invierno = I1 = Tratado (n=100) e I2 = Testigo (n=100) al que se les aplico por vía intramuscular 1mg del mismo producto a los 20 días postinseminación.

A los animales integrantes del experimento 1, se les extrajo una muestra de sangre por punción venicoccígea al momento de la inyección del estradiol y una segunda a los 13 días postinseminación solo a las vacas que repitieron celo. En este experimento se evaluó el comportamiento de los niveles de progesterona (P4) al momento de la aplicación de estradiol, en todos los animales que hayan o no repetido y también se evaluó la fertilidad del segundo servicio postratamiento.

En el experimento 2, se evaluó el porcentaje de vacas vacías al diagnóstico de gestación en la época de verano e invierno.

La determinación de P4 se realizó en el laboratorio de reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, empleando un reactivo de fase sólida. El coeficiente de variación intra e interensayo fue de 7.0 %. El análisis se realizó mediante el suero sanguíneo, la sangre obtenida se centrifugo a 3,000 rpm (revoluciones por minuto) y el suero obtenido se almaceno en viales de 2 ml a una temperatura de -20°C hasta la determinación hormona.

Todas las vacas fueron inseminadas con semen de fertilidad probada, por dos técnicos inseminadores con experiencia. El diagnóstico de gestación, se realizó por palpación rectal a los 43±5 días, determinando así vacas gestantes y vacías en ambos grupos. La detección de estro se determinó mediante actividad electrónica (podómetro) y por crayoneo en la base de la cola.

### **3.4 Variables analizadas en el experimento 1**

- 1.- Tasa de concepción de las vacas que repitieron.
- 2.- Promedio de días desde el tratamiento con ECP a la manifestación de estro.
- 3.- Niveles de progesterona de la segunda muestra en vacas tratadas gestantes vs vacas gestantes testigo.

### **3.5 Variables analizadas en el experimento 2**

- 1.- Porcentaje de vacas vacías al diagnóstico de gestación en verano.
- 2.- Porcentaje de vacas vacías al diagnóstico de gestación en invierno.
- 3.- Promedio de días desde el tratamiento con ECP a la manifestación del estro en verano.

4.- Promedio de días del tratamiento con ECP a la manifestación de estro en invierno.

### **3.6 Análisis estadísticos**

Los datos obtenidos fueron analizados con el programa SYSTAT (versión 10). Para analizar los grupos de vacas gestantes y vacías, se realizó una comparación de proporciones mediante la prueba de Chi cuadrada ( $X^2$ ), para los niveles de P4 y los días de tratamiento a la manifestación de estro se emitió una prueba de t de student.

#### IV. RESULTADOS

En los resultados del experimento 1, con la aplicación de 1 mg de estradiol a los 13 días postservicio, se obtienen tasas de concepción más altas en las hembras reinseminadas, en comparación con las que no reciben tratamiento (cuadro 2), teniendo un aumento significativo ( $P < 0.05$ ) en la tasa de concepción.

Cuadro 2.- Tasa de concepción de las vacas que repitieron en el experimento 1.

Grupos	Animales inseminados	Animales Gestantes	% de gestantes
Tratado	20/55	10	50.0 a
Testigo	17/55	3	18.0 b

Literales distintas entre columnas difieren  $P < 0.05$

En cuanto al promedio de días desde la aplicación de ECP, hasta la manifestación de estro subsiguiente, no se encontró una diferencia significativa entre ambos grupos, pero numéricamente, las tratadas tuvieron 0.8 días más largos en el ciclo estral, como se muestra en el cuadro 3.

Cuadro 3.- Promedio de días desde el tratamiento con ECP a la manifestación de estro, experimento 1.

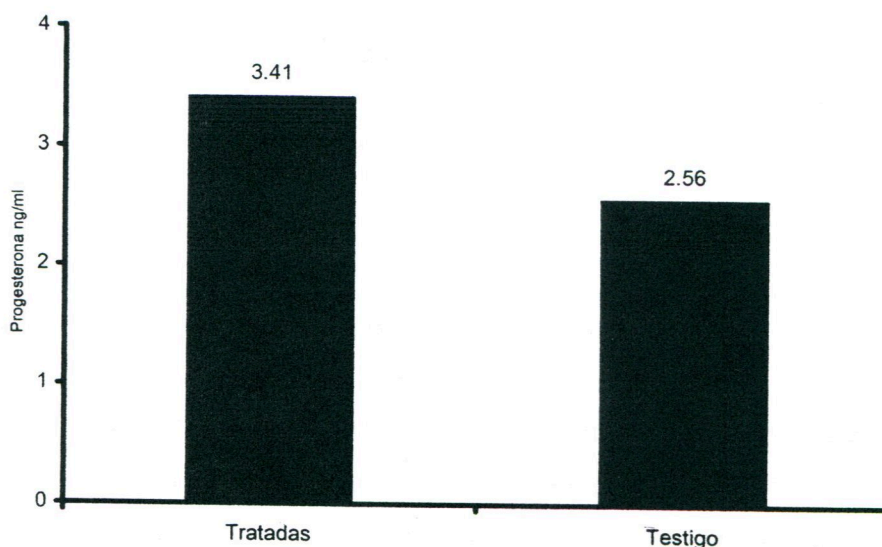
Grupos	Número de animales	No. animales que repitieron	Días desde la inyección al celo.	Duración del C.E.
Tratado	55	20	9.1a	22.1
Testigo	55	17	8.3a	21.3

Literales iguales entre si no difieren

C.E.= Ciclo Estral

Los niveles de progesterona en vacas gestantes, aunque estadísticamente no hubo diferencia significativa, numéricamente los niveles tendieron a ser más altos en las vacas que fueron tratadas (figura 1).

Figura 1. Niveles de progesterona de la segunda muestra en vacas tratadas gestantes vs vacas gestantes testigo, experimento 1.



En cuanto al segundo experimento en el verano, la inyección de 1 mg de cipionato de estradiol a los 20 días después del servicio de inseminación, disminuyó significativamente ( $P < 0.05$ ) la cantidad de vacas que llegan vacías al diagnóstico de gestación en la época de verano (cuadro 4).

Cuadro 4.- Porcentaje de vacas vacías al diagnóstico de gestación en verano

Grupos	N	Vacías	%
V1	55	19	35.8a
V2	43	24	55.8 b

Literales distintas entre columnas difieren  $P < 0.05$

V= Verano

Mientras que en la época de invierno, al aplicar la misma cantidad de estradiol y en los mismos días postservicio, no se obtuvieron los mismos efectos en comparación con el verano, como se muestra en el cuadro 5, en el cual se observa que no hubo diferencia significativa, pero numéricamente tuvo una ligera diferencia.

Cuadro 5.- Porcentaje de vacas vacías al diagnóstico de gestación en invierno.

Grupos	N	Vacías	%
Tratado	58	24	41.3a
Testigo	43	19	44.1a

N.S. = No significativo

Literales iguales entre columnas no difieren

En la época de verano el promedio de días con la aplicación de ECP a los 20 días postinseminación hasta la manifestación de estro (cuadro 6) fue mas bajo significativamente ( $P < 0.001$ ) para el grupo tratado (2.5 días tratadas vs 7.2 días testigo) obteniendo menos días (4.7 días) en las vacas que repitieron estro del grupo tratado, hay que puntualizar que el rango de días entre la inyección y el celo inducido, fue de 5 a 10 días después de la aplicación de ECP en este experimento.

Cuadro 6. Promedio de días del tratamiento a la manifestación de estro en verano.

Grupos	No. De animales	Días promedio al estro
Tratadas	45/100	2.5a
Testigo	57/100	7.2b

Literales distintas entre columnas difieren  $P < 0.001$

El análisis de promedio de días que retornan en estro las vacas tratadas en comparación al grupo testigo, indican que el uso de ECP 20 días postservicio en la época de invierno, reduce el numero de días desde la aplicación, al servicio subsiguiente en las vacas tratadas en comparación con en testigo.

Cuadro 7.- Promedio de días del tratamiento a la manifestación de estro en invierno.

Grupos	N	%
Tratadas	44	2.2 a
Testigo	57	5.1 b

Literales distintas entre columnas difieren  $P < 0.05$

## V. DISCUSIÓN

Estos resultados obtenidos en la tasa de concepción, coinciden con los reportados por Macmillan *et al.*, (1997) quienes aplicaron la misma dosis de benzoato de estradiol entre los días 12, 13 y 14 después del servicio de inseminación artificial, obteniendo una fertilidad más alta en las vacas tratadas que repitieron celo, con relación a las no tratadas, este mismo autor plantea que posiblemente sea, por una oleada folicular mas durante el ciclo estral, provocada por una posible atresia del folículo dominante al momento por efecto del ECP. La fertilidad al primer servicio después de la inyección del estradiol, fue significativamente más alta en los grupos tratados, este efecto debe estar asociado a la promoción de una oleada folicular mas en el ciclo.

En un estudio realizado por Pérez *et al.*, (2003 y 2004) mencionan que las vacas con un único folículo dominante y ovulatorio durante el ciclo estral, alcanza su tamaño máximo el día 19, dando lugar a un ciclo estral de corta duración, mientras que en vacas con dos oleadas foliculares alcanzan su tamaño entre los días 11 y 22 respectivamente y en aquellos animales con tres oleadas, los tamaños máximos se alcanzaron los días 8, 14 y 23, y al monitorear la duración de los ciclos estrales con dos y tres oleadas, encontraron un promedio de  $23.0 \pm 2$  días en vacas con tres oleadas y de  $22.3 \pm 1.8$  días con dos oleadas, en lo que hay semejanza en la longitud del ciclo estral en el promedio de días desde la aplicación de ECP a los 13 días postservicio, hasta la manifestación de estro subsiguiente.

En este estudio el grupo tratado fue de 22.1 días y en el testigo 21.3 días por lo que no se encontró una diferencia significativa entre ambos grupos, pero numéricamente se obtuvo 0.8 días más largo para el grupo tratado, este efecto quizás sea por que reciben un estímulo adicional para el crecimiento folicular por aumento de la FSH o de estradiol o por descenso de la inhibina y son mas fértiles que las de 1 o 2 oleadas (Mihm *et al.*, 1996, Townson *et al.*, 2002).



Adams (1992) afirma que las vacas que tienen altas concentraciones de progesterona durante la fase temprana o media, tienden a desarrollar de 3 a 4 oleadas foliculares, siendo a la vez el tamaño del folículo mayor en comparación con la de 1 o 2 oleadas.

Estos hallazgos pueden tener una relación directa con los argumentos de Ahman *et al.*, (1997) que también plantean que las vacas con tres oleadas, son mas fértiles que las que tienen dos. En este trabajo, no se monitorearon las oleadas foliculares, pero la diferencia entre la longitud de los ciclos entre vacas tratadas y testigos nos podría inferir que en las tratadas, hubo un incremento de una oleada folicular extra, similares a estos resultados, con relación a la duración de los ciclos estrales, según la cantidad de oleadas foliculares.

La aplicación de estradiol al día 13 postinseminación puede ser considerado como una alternativa para reducir el número de días abiertos, ya que sincroniza parcialmente el retorno al estro en aquellas vacas que no conciben, mejorando en ello la fertilidad, tal como sugiere la investigación realizada por Gil *et al.*, (1999).

En cuanto a las concentraciones séricas de progesterona, son bajas durante el proestro y estro, pues esta hormona es un claro inhibidor del comportamiento estral. La función del estradiol y la progesterona parecen tener un efecto de todo o nada en la inhibición del estro, cuando el incremento de los niveles de progesterona rebasan el umbral el estro es inhibido e incluso las concentraciones de estradiol existen para inducir el estro teniendo prioridad la progesterona sobre el estradiol en el control del comportamiento (Allrich, 1993). En este trabajo se muestra que al aplicar ECP durante la fase media luteal después del servicio los niveles de progesterona estadísticamente no se encontró diferencia pero numéricamente fue más alto en el grupo tratado con 3.41ng/ml mientras que en el grupo testigo de 2.56 ng/ml.

En los resultados de esta investigación, indican que en las vacas tratadas con ECP 13 días postservicio, los niveles de progesterona se incrementan mucho mas que en las testigo, lo que se asemeja a los resultados reportados por Burke, (2000) quien concluye que al aplicar esta hormona en estos mismos días los niveles de progesterona aumentan. Considerando estos resultados valdría la pena valorar si el efecto de bajas dosis de esta hormona, tiene influencia sobre la fertilidad en todos los hatos lecheros.

Allrich, (1993) sugiere que el estradiol induce a la manifestación del estro, siempre y cuando haya ausencia de progesterona, pues esta ejerce un efecto inhibitor sobre el comportamiento del ciclo estral, debido a que la progesterona tiene mayor función sobre el estradiol reduciendo su efecto. El ECP se puede utilizar para la resincronización de las vacas en el segundo servicio en aquellas vacas que no queden gestantes en el primer servicio, en este caso el protocolo de heatsynch puede hacer posible una detección temprana de vacas vacías (Parcanci *et al.*, 2002).

Durante el trabajo de investigación, las tasas de gestación se mantuvieron estables en las vacas inyectadas y no se observaron pérdidas de gestación. Los niveles de progesterona fueron similares significativamente para las vacas tratadas y testigo, pero tendieron a ser más altas en las vacas tratadas.

En cuanto a los resultados del experimento 2, se encontró diferencia entre las dos estaciones, sin embargo, en general, la aplicación de 1mg de cipionato de estradiol a los  $20 \pm 1$  puede ser una herramienta de manejo para disminuir la cantidad de vacas que llegan vacías al diagnóstico en épocas de verano, potencializando la expresión del estro y una mayor posibilidad de su detección (Burke, 2000)

Gil *et al* (1999) inyectaron 1 mg de benzoato de estradiol a los  $20 \pm 1$  días después de la inseminación sincronizada en vacas mestizas Holstein x Cebú y llegaron a la conclusión, que dosis bajas (1 mg) de benzoato de estradiol, no modifica la funcionalidad del cuerpo lúteo, ya que no observaron pérdidas de gestación y que es un método económico y práctico para el diagnóstico precoz de la no gestación y para disminuir los días abiertos en la vaca.

Al aplicar estradiol a los 20 días postservicio en verano, los porcentajes más bajos de vacas vacías al diagnóstico de gestación, se obtuvieron en esta época, al compararse con las no tratadas, esto podría deberse a que durante esta época la esteroidogénesis está reducida y la administración exógena de estradiol potenciaría la expresión del estro para su mejor detección (Ahmad *et al.*, 1997). Esto puede afirmarse de acuerdo a lo planteado por Roth *et al.*, (2000) quienes mencionan que la selección de folículos, la duración de ondas foliculares, la calidad del oocito se afectan por el estrés calórico reduciendo a la vez el grado de dominancia del folículo preovulatorio, por lo que folículos subordinados de talla media sobreviven, incrementando durante el verano lo que se relaciona negativamente con la fertilidad, además de que disminuye la secreción de esteroides foliculares, permitiendo que se desarrollen folículos grandes adicionales, incrementando el porcentaje de partos dobles (Wolfenson *et al.*, 1995).

Durante la época de invierno, al contrario que en el verano, los porcentajes de gestaciones fueron similares en el grupo tratado y testigo al igual la fertilidad fue parecida en ambos grupos, esta diferencia en comparación con el invierno, se debe probablemente a que en el verano el estrés calórico reduce la actividad motora y la eficiencia en la detección de estro es reducida, en vacas lecheras (Nobel, *et al.*, 1997).

## VI. CONCLUSIONES

El análisis de estos resultados permiten concluir que la inyección de 1 mg de estradiol a los 13 días después del servicio de inseminación, incrementa significativamente ( $P < 0.05$ ) la fertilidad de las vacas que repiten después del tratamiento e incrementan los niveles de progesterona. Y cuando se aplica a los  $20 \pm 1$  días, disminuyen significativamente las vacas vacías al diagnóstico de gestación sin afectar a la gestación en curso.

## VII. RECOMENDACIONES

Aplicar estradiol al día 13 y  $20 \pm 1$  postinseminación puede ser considerado como una alternativa para reducir el número de días abiertos, ya que sincroniza parcialmente el retorno al estro en aquellas vacas que no conciben en épocas de verano, potencializando la expresión del estro y una mayor posibilidad de su detección.

## LITERATURA CITADA

- Adams , G. P., Matteri, R. L., Kastelic, J. P., Ko, J.C.H y Ghinther, O. J. 1992. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 94:177-188.
- Ahmad, N., Townsend, C. E., Dailey, A. R., Inskeep, K. E. 1997 Relationships of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three waves of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cows and heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 49:13-28.
- Allrich, R. D. 1993. Endocrine and neural control of estrus in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:2738-2744.
- Aréchiga, C. F. 2005. Efectos adversos del estrés calórico en la reproducción del ganado bovino. Memorias del simposio de estrés calórico en ganado lechero de México. UNAM. Pag 5-19.
- Armstrong, D. G., Baxter, G., Hogg, C. O. y Woad, K. J. 2002. Insulin-like growth factor (IGF) system in the oocyte and somatic cells of bovine preantral follicles *Reproduction* 123:789–797.
- Armstrong, D. G., Webb, R. 1997. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Rev. Reprod* 2 (3):139 -146.
- Armstrong, D. V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *Symposium: Nutrition and Heat Stress* 77 (7):2044-2050
- Blanco, A. G. S., Campo, P. E. 1997. Mecanismos neurohormonales del ciclo estral en la vaca. Monografía para obtener el título de maestría en reproducción animal. Universidad Agraria de La Habana. Pág. 20 26.

- Brito, R. C. 1993. Ciclo Reproductivo. Libro de Fisiología de la Reproducción Animal. Segunda edición, latinoamericana, La Habana, Pág. 35-42.
- Burke, C. R., Day, M. L., Bunt, C. R., Macmillan, K. L. 2000. Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. *J. Anim. Sci.* 78:145-151
- Cavestany, D., El-Whishy, A.B. y Foot, R. H. 1985. Effect of season and high environmental temperature on fertility of Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 68:1471-1478.
- Cheryl, S. R., Wagner, J. R., Roberts, R. M., Lubahh, D. B. 2001. Intraovarian actions of oestrogen. *Reproduction* 122:215-226.
- C. N. A. Comisión Nacional del Agua. 2003. Datos estadísticos de la región hidrológica N° 36. Torreón, Coahuila, México.
- Diamond, M. V. 1993. Transferencias de embriones en el ganado bovino. Algunos factores que influyen en la respuesta superovulatoria de la donante y la gestación en receptoras. Centro de investigación para el mejoramiento animal. Tesis para obtener el título de maestría en reproducción animal. La Habana, Cuba. Pag 24-33.
- Fortune, J. E., Rivera, G. M., Yang, M. Y. 2004. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Animal Reproduction Science* 82:109-126
- Gallegos-Sánchez, J., Amezcua E. F., Sartorius, O. T., y P. Hernández, P. P. 2004. Dinámica folicular durante el periodo postparto en vacas. Memorias del X Curso Internacional de Reproducción Bovina. Pág. 50-57

Gil, A., J. L. González, F. Agüero, R. Faure. 1999. Diagnóstico precoz de no gestación en bovino con el benzoato de estradiol. *Rev. Cub. Reprod. Anim.* 25 (1):27-30.

Gilad, E., Meidan, R., Berman, A., Graber, M. y Wolfenson, D. 1993. Effect of heat stress on tonic and GnRH-induced gonadotrophin secretion in relation to concentration of oestradiol in plasma of cyclic cows. *J. Repro and Fertility* 99:315-321.

Ginther, O. J., M. A. Beg, D. R. Bergfelt, F. X. Donadeu, K. Kot. 2001. Follicle Selection in Monovular Species. *Biology of Reproduction* 65:638-647.

González, J. L., Gil, A., Fernández, O. 1995. Profilaxis del puerperio con oxivasopresina y benzoato de estradiol en vacas lecheras. 4to Congreso Nacional de Ciencias Médico Veterinarias. Ciudad de la Habana, Cuba. 104.

Goodman, R. L. 1994. Physiology of reproduction. *Endocrinology* Second edition, New York. 659-693.

Greenwald, G.S., Terranova, P.F. 1988. Follicular selection and its control. En: Knobil, E., Neill, J. *The physiology of reproduction*. Raven Press Ltd. New York, 387-445.

Hafez, E. S. E., Hafez. B. 2002. Hormonas, factores de crecimiento y reproducción. Reproducción e inseminación artificial en animales. Séptima edición. Mc Graw-Hill, Interamericana. Pág 35-55.

Hernández, C. J., 2005. Efectos del estrés calórico en la reproducción del ganado bovino: diferencias de susceptibilidad entre razas. Memorias del simposio de estrés calórico en ganado lechero de México. Pág 30-35.



- Hirshfield, A. N. 1991. Development of follicles in the mammalian ovary. *Rev. Cytol.* 124:43-101.
- Hisnant, C.S.W., Ashburn, S.P.W., and Farin, P.W.. 1999. Current concepts in synchronization of estrus and ovulation of dairy cows. *American Society of animal Science* 1:1-15.
- Ingraham, R. H., Guillette, D. D., Wagner, W. D. 1974. Relationship of temperature and humidity to conception rate on Holstein cows in subtropical climate. *J. Dairy Science.* 57:476-481.
- Kalra, S. P. 1993. Mandatory neuropeptide-steroid signaling for the preovulatory luteinizing hormone-releasing hormone discharge. *Endoc. Rev.* 14:507-538.
- Knobil, E., J. D. Neill. 1994. *The Physiology of Reproduction.* second ed. Mcgraw-Hill. Pág. 320-324.
- Macmillan, K. L., K. V. Taufa, M. A. Day. 1997. Manipulating ovaries follicles wave patterns can partially synchronize returns to service and increase the pregnancy rate to second insemination. *Proc. N.Z.Soc.Anim. Prod* 210.:237
- Márquez, I. C., Otero, L., y López, A. A., 1997. Concentración de progesterona sérica en hembras bovinas en diferente época. *Universidad Centrocidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto Venezuela.* 1:32-45.
- Mihm, M., Diskin, M. G. Y Roche, J. F. 1996. Regulation of follicle wave growth in cattle. *Reprod. Dom. Anm.* 31: 531-538.
- Monniaux, F., Huert, C., Besnard, N., Clement, F., Bosc, H., Pisselet, C., Monget, P., Mariana., J. C.1997. Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. *Journal Reprod. Fert.* 112:25-31.

Nobel, R. L., Jobst, S. M., Dransfield, M. B. G., Pandolfi, S. M., Balley, T. L.. 1997. Use of radio frequency data communication system, heatwatch, to describe behavioural estrus in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 46:179-183.

Ortuño, A. D. 1994. Mecanismos neuroendócrinos de regulación de la reproducción en mamíferos domésticos. *Reproducción Animal Avanzada. Revista Universidad Autónoma de Tamaulipas*; Pág. 1-9

Palma, G. 1993. Folículogenesis. *Biología y Biotecnología de la Reproducción.* [www.reprobiotec.com](http://www.reprobiotec.com) 30-55.

Palta, P., Mondal, S., Parcas, B. S., Manda, M. L. 1997. Peripheral inhibin levels in relation to climatic variations and stage of estrus cycle in buffalo. *Theriogenology.* 47:898-995.

Pancarci, S. M., Jordan, E. R., Risco, C. A., Schouten, M. J., López F. L, Moreira, F., Thatcher, W. W. 2002. Use of estradiol cypionate in a pre-synchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85:122-131

Pérez, C. C., Rodríguez, I., España, F., Dorado, J., Hidalgo, M., Corral, P. S. y Sanz, J. 2004. Dinámica folicular ovárica en vacas repetidoras: estudio ecográfico y perfil de progesterona. *Vet. Med. Czech* 53:35-46.

Pérez, C. C., Rodríguez, I., España, F., Dorado, J., Hidalgo, M. y Sanz, J. 2003 Follicular growth patterns in repeat breeder cows. *Vet. Med. Czech* 48:1-8

Petersen, S. L., Ottem, E. N., Carpenter. C. D. 2003. Direct and indirect regulation of gonadotropin-releasing hormone neurons by estradiol. *Biol Reprod* 69 (6):1771-1778.

- Rensis, F. D., Scaramuzzi R. J. 2003, Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow-a review. *Theriogenology* 60 (6):1139-1151.
- Roche, J. F. 1996. Control and regulation of folliculogenesis-a symposium in perspectiva. *Rev Repro* 1 (1):19-27.
- Roth, Z., Meidan, R., Braw-Tai, R., Wolfenson, D. 2000. Immediate and delayed effect of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cow. *J. Reprod Fertility* 120:83-90.
- Sacristán, G. S., Montijano, C. F. Palomino, L. F. Gallego, G. J. López de S. M., Ruiz, S. G. 1995. Mecanismos maternos endocrinos. *Interamericana*. McGraw-Hill. 1ra edición, Pág. 881-890.
- Schmidt, R. H. 1989. The arid Zones of México: Climatic extremes and conceptualizations of the Sonora desert. *J. Arid. Env.* 16:241-256
- SYSTAT 2000. User's guide: Version 10 SAS institute., Inc, Cary, NC.
- Thatcher, W.W., Moreira, F., Pancarci, M.S., Bartlome, A.J y Santos, J.E. (2002) Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. *Domestic Animal Endocrinology* 23:243-254.
- Townson, D. H., Tsang, P. C., Butler, W. R., Frajblat, M., Griel, L. C., Johnson, C. J., Milvae, R. A., Niksic, G. M., y Pate, J. L. 2002. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 80:1053-1058
- Turzillo, A. M. y Fortune, JE. 1993. Effects of suppressing plasma FSH on ovarian follicular dominance in cattle. *J. Reprod. Fert.* 98:113-119.

Waldmann, A., Reksen, O., Landsverk, Kommisrud, E., Dahl, E., Refsdal, A. O., Ropstad, E. 2001. Progesterone concentration in milk fat at first insemination-effects on non-return and repeat-breeding. *Anim. Reprod. Sci.* 65:33-41.

Walters, D. L. y Schallenberger E. 1984. Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during preovulatory phase of the oestrus cycle in the cow. *J. Reprod. Fert.* 71: 503-512.

Wandji, S. A., Gadsby, J. E., Simmen, F. A., Barber, J. A., Hammond J. M. 2000 Porcine ovarian cells express messenger ribonucleic acid for the acid-labile subunit and insulin-like growth factor binding protein-3 during follicular and luteal phases of the estrous cycle *Endocrinology* 141:2638-2647

West J. W. 1994 Interactions of Energy and Bovine Somatotropin with Heat Stress. *J. Dairy Sci.* 77:2091-2102

Wolfenson, D., Z. Roth, y R. Meidan, 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 535-547.

Wolfenson, D., Thatcher, W. W., Badinga, L., Savio, J. D., Meidan, R., Lew, B.J., Braw-Tal, R., y Berman, A. 1995. Effect of the heat stress on follicular development during the estrus cycle in lactating dairy cattle. *Biol. Reprod.* 52: 1106-1113.