

01673  
-7  
29j



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

COMPARACION DE LA FOLICULOGENESIS Y CICLOS  
ESTRALES DE NOVILLONAS CEBU Y CEBU - HOLSTEIN  
DURANTE LOS MESES DE MARZO A JUNIO EN EL  
TROPICO HUMEDO DE MEXICO.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL  
P R E S E N T A :  
M.V.Z. CARLOS GUILLERMO GUTIERREZ AGUILAR

Aseores:

- M.V.Z. PhD. Carlos Galina Hidalgo
- M.V.Z. PhD. Luis Zarco Quintero
- M.V.Z. M. Sc. Ivette Rubio Gutiérrez



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## LISTA DE CONTENIDO

	Página.
Resúmen	1
I. Introducción General	3
II. Revisión de Literatura	5
2.1. Estacionalidad	5
2.2. Foliculogénesis	12
2.2.1. Etapa Basal	15
2.2.2. Etapa Tónica	20
2.3. Ultrasonografía y Palpación	
Rectal de los Ovarios	26
III. Evaluación de la actividad ovárica en novillonas Cebú y Cebú-Holstein durante los meses de marzo a junio en el trópico húmedo de México.	28
IV. Foliculogénesis durante el anestro, ciclos estrales y transición del anestro a ciclos estrales en novillonas Cebú.	44
V. Eficiencia de la palpación rectal en la detección del cuerpo lúteo funcional, y folículos ováricos en novillonas Cebú y Holstein-Cebú. Comparación con ultrasono-	

<b>grafía y radioinmunoanálisis.</b>	<b>68</b>
<b>VI. Discusión General</b>	<b>89</b>
<b>VII. Conclusiones</b>	<b>93</b>
<b>VIII. Bibliografía</b>	<b>94</b>

GUTIERREZ AGUILAR CARLOS GUILLERMO. COMPARACION DE LA FOLICULOGENESIS Y CICLOS ESTRALES DE NOVILLONAS CEBU Y CEBU-HOLSTEIN DURANTE LOS MESES DE MARZO A JUNIO EN EL TROPICO HUMEDO DE MEXICO. (Bajo la supervisión de MVZ. Carlos Galina H., MVZ. Ivette Rubio G. y MVZ. Luis Zarco Q.)

## RESUMEN

Se realizaron tres experimentos utilizando 16 novillonas Cebú Gyr entre 24 y 36 meses de edad y 7 novillonas Holstein-Cebú entre 18 y 30 meses de edad.

En el primero se estudió la actividad ovárica entre los meses de marzo a junio. Cada mes los animales fueron clasificados en anestro, transición entre anestro hacia ciclicidad, o animales ciclando, de acuerdo a las concentraciones plasmáticas de progesterona y eventos foliculares determinados por ultrasonido. El 100% de las Holstein-Cebú ciclaron durante todo el periodo evaluado. En cambio, solo el 18% de los animales Cebú, ciclaban al inicio del estudio y conforme avanzó el tiempo la proporción de animales ciclando fue en aumento ( $p < 0.0001$ ).

En el segundo estudio se comparó la dinámica folicular de animales anéstricos, ciclando y en transición entre anestro y ciclando. Se registró ultrasonográficamente la presencia de estructuras lúteas y el número de folículos, los que fueron clasificados en folículos de 6 mm ó menores (F1), entre 7 y 12 mm (F2), y mayores de 12 mm (F3). En el mes de marzo hubo más F1 que en los meses de abril, mayo y junio ( $p < 0.05$ ). Los animales ciclando tuvieron menor número de F2 que todo el conjunto de animales (ciclando y no ciclando). El crecimiento de F2 en animales en anestro, y F1 y F3 en animales en transición, se incrementó en los días previos al inicio del primer ciclo estral. En ganado Cebú ciclando fué mayor el número de F3 ( $p < 0.0001$ ) en los días 0 y 6, sugiriendo la existencia de oleadas foliculares. El número de F3 fué mayor en los días 7 y 8, y -3, -1 y 0 ( $p < 0.001$ ), indicando la presencia de dos oleadas foliculares durante el ciclo estral. Hubo más F2 en animales en transición que en los anéstricos ( $p < 0.06$ ), y más F3 en animales en transición que en animales ciclando (0.42 vs. 0.19  $p < 0.05$ ), lo que indica en transición hay un aumento en la actividad ovárica pero los F3 que crecen no son del todo dominantes y no suprimen el reclutamiento de F2. Los F2 y F3 tuvieron efecto inhibitorio sobre el crecimiento de folículos de categorías inferiores. Se concluye que existe un incremento en la actividad ovárica en los días previos al inicio de la ciclicidad. Además, los folículos de tipo F2 y F3 inhiben el crecimiento de folículos de menor tamaño, lo que puede causar la presencia de oleadas foliculares durante el ciclo estral.

En un tercer estudio realizado para evaluar la eficiencia de la palpación rectal para la detección del cuerpo lúteo y folículos, comparándola contra ultrasonografía y determinaciones de progesterona por Radioinmunoanálisis. No se demostró

diferencia en la palpabilidad del cuerpo lúteo entre meses ni entre razas ( $p>0.05$ ) cuando se ajustó la incidencia de cuerpos lúteos en la población. En el presente trabajo la palpación rectal no mostró ser un buen indicador de la existencia de folículos a partir de los 6mm. de diámetro. Se concluye que la palpación rectal resulta ser un buen indicador de la presencia de un cuerpo lúteo activo, y no existe diferencia en cuanto a la palpabilidad del cuerpo lúteo entre razas ni entre meses del año.

## INTRODUCCION GENERAL

En México el 25 % del territorio nacional se localiza en áreas tropicales, donde las características climáticas imponen a la actividad ganadera condiciones no siempre ventajosas. Las razas bovinas mejor adaptadas para vivir bajo las condiciones climáticas tropicales son las de tipo cebuino. Sin embargo, a pesar del potencial ganadero de las zonas tropicales la eficiencia reproductiva de este ganado es baja en comparación con el ganado explotado en áreas templadas (Anta et al., 1989; Linares et al., 1974; Vaccaro, 1973).

El inicio de la vida reproductiva en los animales en el trópico ocurre en promedio hasta los 19.4 meses de edad (Plasse et al., 1968), pero los animales no muestran esto sino hasta los 22 meses de edad (Galina y Arthur, 1989a). En cuanto al primer parto, Galina y Arthur (1989a), en una revisión de literatura, encontraron que el promedio de edad al primer parto en animales explotados en el trópico nunca fue menor de los 40 meses de edad.

Existe evidencia de que el ganado *Bos taurus* tiene mejores parámetros reproductivos que el ganado *Bos indicus*, aunque el porcentaje de desechos es mayor en *B. taurus* y su vida reproductiva más corta debido a índices de mortalidad e infertilidad más grandes comparados con el *B. indicus*; y de que la cruce entre ambos mejora el desempeño del segundo (Galina y Arthur 1989a).

En el ganado bovino productor de carne existen variaciones estacionales en la reproducción, Escobar y col. (1982) mostraron que el 40% de los partos se concentran en los meses de marzo, abril y mayo, por lo que la época de mejor fertilidad durante el

verano. Esta estacionalidad puede ser más marcada en el ganado Cebú puro, Stahringer et al (1990) encontraron una elevada proporción de anormalidades en el ciclo estral de novillonas Brahman durante los meses de octubre a marzo, siendo más común la presencia de estro sin formación de cuerpo lúteo y el anestro.

El objetivo del presente trabajo es investigar si en el ganado Cebú y la cruce Holstein-Cebú (5/8) existe una reducción en la actividad reproductiva durante los meses de invierno y se da una recuperación de la actividad ovárica entre los meses de marzo a junio.

El presente trabajo consta de tres partes. En la primera (capítulo III), se investigó mediante estudios ultrasonográficos y determinaciones seriadas de progesterona si existen cambios en las características de la actividad ovárica entre los meses de marzo a junio en el ganado Cebú y la cruce Holstein-Cebú (5/8). También se investigó si existen diferencias entre los dos tipos de animales con respecto a actividad ovárica. En la segunda parte (capítulo IV), se evaluó si existieron diferencias entre los meses y entre los genotipos con respecto a la dinámica folicular. En la tercera parte (capítulo V) se realiza una evaluación de la técnica de palpación rectal, evaluando su efectividad para detectar cuerpos lúteos y folículos mediante la comparación contra ultrasonido y/o mediciones hormonales.



## REVISIÓN DE LITERATURA.

### 2.1 ESTACIONALIDAD

La estacionalidad reproductiva es una de las estrategias desarrolladas a través de la evolución que los animales han utilizado para lograr que sus crías nazcan en la época más favorable del año, que generalmente es en primavera o finales del invierno. Con excepción de los animales capaces de experimentar diapausa, o implantación retardada, en la mayor parte de los mamíferos la gestación tiene una duración fija y característica para la especie; por tanto si un animal va a regular la época en que su cría debe nacer, debe hacerlo regulando los eventos reproductivos iniciales, esto es la época en que se apareará (Haynes y Howles, 1981). Los cambios estacionales en temperatura, disponibilidad de alimento y precipitación pluvial son los factores principales de los que depende la sobrevivencia de los animales adultos y sus crías, y por lo tanto la mayor parte de las especies fijan la época de nacimientos para que coincida con temperaturas favorables y buena disponibilidad de nutrientes. Sin embargo, la temperatura y la disponibilidad de forraje no son necesariamente los factores utilizados como claves para regular la actividad reproductiva (Lincoln y Short, 1980). Debido a la importancia de fijar acertadamente el momento de la concepción, los animales se han hecho dependientes de claves medioambientales que constituyan predictores exactos de la época del año, y los cambios cíclicos en la longitud del fotoperiodo proveen esta señal (Lincoln y Short, 1980; Haynes y Howles, 1981).

Los procesos fisiológicos mediante los cuales el fotoperiodo

regula la estacionalidad han sido estudiados principalmente en ovinos. El efecto del fotoperiodo sobre la reproducción ha sido claramente demostrado al transferir ovejas de ciclos luminosos crecientes a decrecientes y viceversa, lo que resulta en una inversión de la época reproductiva (Hackett y Wolynetz, 1982; Malpaux et al., 1988; Ortavant et al., 1988).

Los eventos reproductivos son regulados por el hipotálamo por medio de la secreción de Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) (Thiery y Martin, 1991), la que a su vez regula la secreción de Hormona luteinizante (LH) por la hipófisis. Tanto el GnRH como la LH se secretan en forma pulsátil, cuya frecuencia es regulada a nivel hipotalámico (Lincoln and Short 1980). Durante el anestro la frecuencia en los pulsos de LH es muy baja, mientras que en la época reproductiva los pulsos de LH son más frecuentes (Robinson et al., 1985; Pelletier, 1986) y este cambio en la frecuencia está directamente influenciado por el fotoperiodo.

Actualmente se sabe que el individuo capta la señal luminosa y la transforma en una señal endócrina. La hormona que el organismo utiliza para este propósito es la melatonina, la cual es secretada durante las horas de obscuridad por la glándula pineal. Por lo tanto, la secreción de melatonina es la que indica al organismo la duración de la noche (Bittman et al., 1983; Karsch, 1986). Legan y Karsch (1983) han demostrado que los ojos son importantes en la respuesta al fotoperiodo, ya que al ser éstos enucleados, los animales perdían la capacidad de regular su actividad reproductiva en respuesta a cambios en el fotoperiodo,

indicando la presencia de un vínculo entre los fotoreceptores en la retina y la regulación neuroendócrina de la reproducción. Lincoln et al. (1985), en una revisión de la literatura indican que el estímulo luminoso es llevado de la retina al núcleo supraquiasmático, en el hipotálamo anterior, y de ahí el estímulo es conducido por vía simpática hasta la glándula pineal, influyendo en la secreción de melatonina.

El efecto de la melatonina sobre la reproducción ha sido comprobado por Yellon et al. (1985) y Chemineau et al. (1988) al mantener ovinos en periodos continuos de luz y suplementando melatonina en cantidades suficientes para obtener niveles circulantes similares a los que se encuentran en la época reproductiva (días cortos), logrando que los animales ciclaran igual que los controles que se encontraban en un fotoperiodo de días cortos.

A pesar de que es reconocida la influencia de la melatonina sobre los eventos reproductivos, el modo en que la melatonina codifica para indicar la longitud del día es aún discutida, a este respecto se han postulado dos teorías. La primera dice que el factor más importante es la duración de la elevación de melatonina (duración de la noche); uno de los trabajos más ilustrativos de esta teoría es de Wayne et al. (1988) quienes administraron melatonina a animales pinealictomizados durante periodos de diferente duración no coincidentes con las horas de oscuridad, encontrando que los animales a quienes se les administraba melatonina por un periodo similar al que se tendría en días cortos ciclaban de igual manera que aquellos que estaban en regimen luminoso de días cortos. Resultados similares fueron

obtenidos por Arendt et al. (1988) y por Karsch et al. (1988), y esta teoría parece ser la más aceptada. La otra teoría propone que existe un ciclo circadiano de fotosensibilidad, y que la longitud del día no es medida por la duración total de las horas luz, sino por dos fases fotosensibles, una de ellas poniendo en marcha el ritmo circadiano de fotosensibilidad y la otra induciendo o no la respuesta fisiológica, si coincide con la fase fotoinductora para ese ciclo (Ortavant et al. 1988).

El mecanismo por el cual la secreción de melatonina de la glándula pineal controla la estacionalidad, y en el cual parece haber consenso, es que la melatonina regula la capacidad del estradiol para inhibir la secreción de GnRH por el hipotálamo (Bittman et al., 1985; Ebling et al., 1990; Karsch, 1986; Karsch et al., 1987; Meyer and Goodman, 1986; Sizonenko et al., 1985). De esta manera, cuando los días son largos la melatonina aumenta la sensibilidad del hipotálamo ovino hacia la retroalimentación negativa del estradiol (Bittman et al. 1983), provocando que el GnRH no se secrete con la frecuencia necesaria para provocar desarrollo de folículos preovulatorios, llevando al animal a un estado de anestro (Minton 1990). Esta regulación dependiente de estrógenos actúa por la estimulación de neuronas catecolaminérgicas (dopaminérgicas y adrenérgicas) que son las que inhiben a las neuronas productoras de GnRH (Meyer and Goodman 1986). Un trabajo de Herdon et al. (1983) presenta evidencias de la intervención de vías adrenérgicas, ya que encuentran sitios de unión alfa y beta adrenérgicos en la corteza cerebral de borregos.

Además de la regulación dependiente de estrógenos, existe otro mecanismo de inhibición hipotalámica no dependiente de esteroides. El efecto de este mecanismo independiente de estrógenos se aprecia en animales ovariectomizados y a los que no se les da terapia de reemplazo con estrógenos. En dichos animales sigue existiendo la variación estacional en la secreción de LH (Robinson et al. 1985). Meyer y Goodman (1986) aplicaron antagonistas de 6 neurotransmisores durante el periodo de anestro ovino, con el fin de encontrar al neurotransmisor responsable del mecanismo de inhibición independiente de gonadotropinas, y encontraron que la ciproheptidina, antagonista de la serotonina, provoca un incremento en la frecuencia de pulsos de LH, mientras que este efecto no se presenta en la época reproductiva. Basados en estos resultados proponen que la inhibición estrógeno-independiente de la secreción de LH durante la época de anestro actúa vía neuronas serotoninérgicas. A similares conclusiones llegaron Whisnant y Goodman (1990) al inyectar a ovejas anéstricas un antagonista de la serotonina, aunque la regulación independiente de estrógenos no parece ser esencial para la inhibición de los pulsos de LH durante el anestro.

El bovino, aunque es una especie que cicla y es capaz de concebir durante todo el año, muestra variaciones estacionales en algunas características reproductivas, por ejemplo, la época de nacimiento en los búfalos explotados en el este de Europa tiene una marcada estacionalidad en primavera y verano (Aleksiev et al., 1988; Zao 1988). En forma similar, Enriquez (1991) encontró que la mayor parte de los nacimientos ocurrían en el primer trimestre del año en una explotación de ganado Cebú en México. El

intervalo entre partos en diversas especies bovinas es más largo en animales que paren en el otoño en comparación con las que lo hacen en primavera (Bulman y Lamming, 1978; Zao 1988). Así mismo la época de nacimiento de una becerro afectará la edad en que esta alcanzará la pubertad, probablemente debido al fotoperiodo al que estará expuesta (Hauser 1984). Evidencia del efecto del fotoperiodo sobre la reproducción es el trabajo realizado por Fauconneau y Gauthier (1984), quienes suplementaron 4 horas de luz a novillas durante 22 semanas y observaron que al término del tratamiento 62 % de los animales tratados se encontraban ciclando en comparación con 25 % del grupo testigo. La fertilidad y el número de animales que muestran estros también son afectados por la época del año (Randel, 1984; Fulkerson y Dickens, 1985). Sin embargo, la mayor parte de los trabajos sobre estacionalidad en bovinos son hechos midiendo los efectos últimos de la estacionalidad reproductiva como fertilidad, nacimientos, intervalo entre parto, presentación de calores, y estos pueden ser afectados por factores que confunden el resultado, además de que se miden a nivel de hato.

Uno de los trabajos que analizan la estacionalidad del bovino a nivel hormonal es el realizado por Day et al. (1986); ellos midieron los pulsos de LH en vacas ovariectomizadas implantadas con estrógenos en el solsticio de verano y solsticio de invierno, encontrando que la frecuencia de pulsos era mayor durante el verano que en el invierno.

Existen evidencias de que el desarrollo folicular bajo condiciones endócrinas no óptimas, o cambios en el ambiente

endócrino durante la foliculogénesis, pueden resultar en la formación de un cuerpo luteo anormal (Braden et al, 1989; Coleman y Dailey, 1983; White et al., 1985). por lo que la baja frecuencia de secreción de LH que se produce durante el invierno podría resultar en desarrollo folicular alterado, e inclusive provocar la formación de cuerpos luteos con función anormal.

## 2.2 FOLICULOGÉNESIS

La foliculogénesis de los animales domésticos es un proceso aún no claramente entendido, particularmente los procesos de selección de aquellos folículos primordiales que seguirán su desarrollo.

El ovario de los mamíferos domésticos es uno de los pocos órganos en los cuales el número de elementos activos es fijado desde antes del nacimiento. El número de folículos presentes en el ovario se establece durante el desarrollo embrionario, y el número de ovocitos disminuye constantemente durante la vida de la hembra.

En una reciente revisión de literatura, Hirshfield (1991) detalla los principales sucesos en la histogénesis del ovario. Durante el desarrollo embrionario temprano las células germinales son primeramente localizadas en el saco amniótico; estas células son móviles e invasivas y migran por el mesenterio dorsal para establecerse en la gonada primitiva. De esta gónada indiferenciada se derivarán todos los componentes celulares que constituyen el folículo. Una vez que la gonada ha sido invadida por las células germinales, éstas pierden su característica invasiva y tanto ellas como las células somáticas entran en un periodo de rápida proliferación mitótica. Luego las células somáticas se interponen entre las células germinales, rodeandolas para que posteriormente las células germinales sean transformadas en ovocitos cuando cese su división mitótica y entren en proceso de meiosis. Las células somáticas organizadas alrededor de los ovocitos continúan su multiplicación durante todo el periodo embrionario, y van gradualmente envolviendo a los ovocitos para



formar los folículos primordiales. De esta manera cada folículo primario queda compuesto de un ovocito rodeado de algunas células aplanadas, llamadas células de pregranulosa, a su vez envueltos por una membrana basal.

Una vez que el ovario está formado, los folículos primordiales permanecerán inactivos, y solo unos cuantos de ellos serán seleccionados para desarrollarse en un determinado momento. Los eventos que se presentan desde el reinicio del crecimiento de un folículo primario, hasta convertirlo en un folículo preovulatorio, han sido investigados principalmente en animales de laboratorio, especies para las cuales se han postulados esquemas de desarrollo que podrían servir como base para el entendimiento de éste fenómeno en el bovino.

El folículo primario de la rata, cortado en su diámetro mayor, tiene 4 células de pregranulosa rodeando al ovocito, las células de este folículo son llamadas de primera generación (Hirshfield et al. 1987). Cuando estas células se duplican y llegan a ocho, se les denomina de segunda generación, y así sucesivamente hasta la décima generación, la cual constituye un folículo preovulatorio. Las tres primeras generaciones de desarrollo son difíciles de diferenciar de los folículos primordiales inactivos desde el punto de vista microscópico, ya que estas etapas tienen un ritmo de crecimiento muy lento. Los folículos en estas etapas carecen de teca interna y forman la zona pelúcida, la cual se hace evidente durante este periodo. Entre la cuarta y séptima generación los folículos desarrollan la teca interna y empiezan a formar espacios antrales y tienen

receptores para FSH y LH en las células de la granulosa y teca interna respectivamente. La atresia es raramente observada en estas etapas de desarrollo.

Los folículos de la octava y novena generación representan el periodo crítico de desarrollo, donde un folículo puede convertirse en folículo preovulatorio o bien sufrir atresia. Es en éstas dos generaciones donde se da el mayor índice de atresia en el desarrollo folicular. La capacidad duplicadora de las células de la granulosa se agota y se desarrolla completamente el antro folicular. En esta etapa el folículo posee receptores para gonadotropinas, estrógenos y andrógenos, pero las células de la granulosa carecen aún de receptores para LH.

El folículo de décima generación se caracteriza por desarrollar receptores para LH en las células de la granulosa y tiene las células de la teca divididas en dos regiones, la interna especializada en producción de esteroides y la externa que contiene actina y miosina. Estos folículos contienen todas las enzimas necesarias para producir progesterona, andrógenos, estrógenos y una serie de otras sustancias (inhibina, proteoglicanos, prostaglandinas y activador del plasminógeno, entre otros). El folículo de décima generación es capaz de responder con ovulación a la administración de LH o HCG.

Desde el punto de vista hormonal el proceso de desarrollo folicular comprende dos etapas (Driancourt 1991), la primera es la basal, que puede ser llevada a cabo aunque sea en parte en la ausencia de gonadotropinas, y la segunda es la etapa tónica, la cual depende del aporte de gonadotropinas.

### 2.2.1 Etapa basal

Dos semanas después del nacimiento los ovarios de los mamíferos contienen folículos en todas las etapas de desarrollo a excepción de folículos de Graaf (Seidel y Niswender, 1980). Se considera que un gran número de folículos primordiales reinician su desarrollo poco después del nacimiento, y otros muchos degeneran al mismo tiempo. Se puede indicar que la reducción en el número de los folículos primordiales sigue un ritmo exponencial (Mariana 1980), dependiendo del número de folículos que sufren atresia con el tiempo y el número de folículos que inician su desarrollo y por lo tanto dejan de ser parte de la reserva de folículos primordiales. Durante la vida fetal degeneran un gran número de ovocitos, coincidiendo con el inicio de la meiosis (Hirshfield, 1991). Entonces el número de folículos presentes en el ovario al momento del nacimiento está en relación al periodo de proliferación de las células germinales, a la tasa en que éstas proliferaron y al grado de atresia de que fueron objeto (Hirshfield 1991).

El primer signo morfológico del inicio del crecimiento folicular es el reinicio de la proliferación de las células de la granulosa, que cambian de ser aplanadas a cuboidales. Además, el ovocito aumenta de tamaño alcanzando su máximo desarrollo en etapas tempranas de la foliculogénesis (Hafez, 1987; Szollosi 1980).

Aunque se desconoce el mecanismo por el cual ciertos folículos son elegidos para dejar la reserva de folículos primordiales y convertirse en folículos primarios para continuar

su desarrollo, se han postulado diversas teorías al respecto.

Mulheron et al. (1987) propusieron un efecto estimulante de las gonadotropinas sobre los folículos primordiales, ya que ellos encontraron moléculas de FSH y LH en el citoplasma y núcleo de ovocitos de folículos primordiales. El papel estimulante de las gonadotropinas hipofisiarias en el inicio del desarrollo folicular fué demostrado por Arendsen de Wolff-Exalto (1982), quien transplantó ovarios de ratas neonatas a ratas adultas ovariectomizadas e hipofisectomizadas o solamente ovariectomizadas, analizando los ovarios quince días después del transplante, encontrando que en el grupo de animales ovariectomizados la cantidad de folículos con 8-20 células de la granulosa era mayor que en el grupo de ratas ovariectomizadas e hipofisectomizadas.

Las gonadotropinas pueden actuar sobre el crecimiento folicular y la estructura de la población folicular en cuatro formas: 1.- modificando la multiplicación celular 2. modificando el crecimiento del ovocito. 3. induciendo el desarrollo del antro y 4. provocando que deje de ser un folículo de reserva e inicie su crecimiento (Mariana 1980).

Durante la vida temprana, cuando se está formando la gónada, es posible que las gonadotropinas actúen sobre la multiplicación y organización de las células de la rete ovarii y consecuentemente en el número de folículos de mayor desarrollo. Evidencia indirecta de este efecto ha sido obtenida en el trabajo de Moore y Lintern-Moore (1979) quienes inyectaron PMSG a ratas de 28 días de edad y encontraron un aumento en la actividad de RNA polimerasa en ovocitos de folículos primarios, indicando el

inicio de la maduración.

Las gonadotropinas intervienen en la formación antral, en animales tratados con gonadotropinas, se provoca que el antro aparezca más temprano en el desarrollo y que los folículos tengan un antro más desarrollado que el correspondiente a su nivel de desarrollo.

Las gonadotropinas provocan que los folículos con menos de 40 células inicien su desarrollo, e inducen un incremento en el índice de crecimiento y protección de folículos de la atresia (Mariana 1980).

Las gonadotropinas no son indispensables para el inicio del desarrollo folicular, ya que en su ausencia el desarrollo folicular continúa normalmente hasta estados avanzados, aunque sin presencia de FSH el folículo no forma antro (Hirshfield 1991).

Otra teoría que se ha propuesto para explicar el reinicio de la foliculogénesis es la propuesta por Mulheron *et al.* (1987), quienes dicen que la señal para iniciar el crecimiento proviene del ovocito. Ellos encontraron LH y FSH en el ovocito de folículos primordiales, proponiendo que las gonadotropinas son necesarias para el desarrollo del folículo. Sin embargo, el ovocito es quien rige la salida del folículo del estado latente, por lo tanto durante el ciclo estral, ciertos folículos se convierten en blancos de las gonadotropinas, y la FSH y LH son translocadas al núcleo del ovocito de dichos folículos; durante la transición del estado primordial a primario las gonadotropinas se separan del núcleo pero se mantienen presentes en el citoplasma. Esta

capacidad del ovocito para retener las gonadotropinas puede explicar el desarrollo de folículos hasta el estado preantral en ausencia de niveles continuos de gonadotropinas hipofisiarias.

Hirshfield *et al.* (1987) también propusieron otra teoría sobre el inicio del crecimiento folicular. De acuerdo a ella las células de la teca interna no se distinguen sino hasta que el folículo está claramente en fase de crecimiento, por ello los folículos de talla mediana son rodeados por una capa de células parecidas a fibroblastos que generalmente son consideradas como células tecales inmaduras. Por lo tanto proponen que éstas células precursoras de la teca, son las que dan la señal para que las células de la granulosa comiencen su proliferación, y que el crecimiento folicular comienza cuando un número crítico de células precursoras de la teca se juntan alrededor de un folículo.

Otra teoría es la de compartimentalización del ovario (Merchant, 1991), según la cual la localización de los folículos dentro del ovario parece tener influencia sobre la probabilidad de que se desarrollen. Las características del ciclo celular de las células somáticas son muy diferentes de acuerdo a su posición en la gónada embrionaria, y características similares para las células del ciclo de la *rete ovarii* y probablemente esta compartimentalización persista hasta la formación de los folículos.

La compartimentalización de la reserva de folículos primordiales en la rata esta basada en la capacidad de las células del folículo para multiplicarse. Esta capacidad se incrementa con el tamaño del ovocito y con el número inicial de

células rodeando al ovocito. Así pues, la probabilidad de que un folículo inicie su crecimiento está relacionada con el número de células foliculares y el tamaño de ovocito, y con la habilidad de sintetizar RNA por el nucleolo del ovocito (Mariana 1980). Esta probabilidad es de casi 1 en folículos que tengan 40 células al momento en que cesa la histogénesis ovárica .

A su vez, el tamaño del ovocito y su capacidad de síntesis depende de las células foliculares que lo rodean, las cuales establecen uniones con él y le transfieren proteínas y metabolitos que necesita para su crecimiento y funciones sintéticas (McLaren 1980, Szollosi 1980).

El crecimiento de un folículo se presenta de acuerdo a Mariana (1980) por tres factores: a) El crecimiento del ovocito se reduce cuando el folículo alcanza cierto tamaño, durante su crecimiento la incorporación de uridina tritiada a la síntesis de RNA nuclear y nucleolar en el ovocito alcanza un máximo y luego declina de acuerdo al tamaño del ovocito. Mas aún, existe diferente permeabilidad del núcleo a los precursores de acuerdo al tamaño del ovocito, reservas endógenas de RNA y variaciones en el grado de síntesis de RNA con el tiempo. b) El crecimiento del folículo también se incrementa por multiplicación celular y el arreglo de las células que rodean al ovocito. c) La formación del antro se presenta entre las células de la granulosa, y después estos espacios se comunican entre sí formando un solo antro.

Durante el crecimiento desde la fase primordial la cual dura varios ciclos, el folículo estará sujeto a diferentes ambientes hormonales, recibiendo estímulos periódicos de gonadotropinas que

pueden modificar la actividad multiplicadora de las células de la granulosa ó rescatar al folículo de la atresia.

### 2.2.2 Etapa tónica

Durante la segunda etapa, los folículos se hacen extremadamente dependientes de las gonadotropinas, particularmente la FSH en un principio, para luego establecerse una interacción de factores ovario-pituitario-hipotalámicos y factores paracrinós que controlan la selección y dominancia folicular (Driancourt *et al.*, 1987; Fortune *et al.*, 1991). Esta etapa consta de tres procesos casi simultáneos, definidos como reclutamiento, selección y dominancia para su maduración final (Driancourt, 1991).

Primeramente ocurre el reclutamiento, que consiste en la estimulación del crecimiento de un conjunto (onda) de folículos, de entre los cuales surgirá el que llegará a ovularse. Para que un folículo pueda ser reclutado para proseguir con su desarrollo, debe haber alcanzado la etapa de dependencia de gonadotropinas, la cual se obtiene cuando los folículos del bovino tienen aproximadamente 4-5 mm. de diámetro (Driancourt, 1991). Se considera que en el caso de los bovinos se reclutan de 5 a 6 folículos, y esto se logra con niveles basales de gonadotropinas, especialmente FSH. Turzillo y Fortune (1990) suprimieron el pico secundario de FSH por medio de la aplicación de líquido folicular conteniendo inhibina, y obtuvieron un retraso de 2 días en el desarrollo de la primera onda folicular, dando como consecuencia también un retraso en la segunda onda folicular, obteniéndose una mayor incidencia de ciclos con 2 ondas foliculares en los



animales tratados debido a que no dio tiempo de que se iniciara una tercer onda folicular antes de la regresión del cuerpo lúteo. Si por el contrario, se aplica FSH antes del pico secundario, se adelantan la primera y segunda oleadas foliculares, y se obtiene una mayor incidencia de 3 ondas foliculares en el ciclo estral de los bovinos.

De la misma manera, Hinshelwood et al. (1991) aplicaron líquido folicular bovino a animales posparto y encontraron un disminución en la secreción de FSH por la pituitaria y un retraso en el surgimiento de oleadas foliculares.

Estos tratamientos con líquidos foliculares no afectan la secreción de LH, sin embargo no se puede descartar la intervención de la LH en el reclutamiento folicular, ya que el tratamiento con Buserelin, un análogo de la GnRH, aumenta el número de folículos medianos presentes en el ovario cinco días después del tratamiento (Macmillan y Thatcher, 1991).

Una vez reclutada cierta cantidad de folículos, se realiza la selección del folículo dominante por interferencia del folículo más grande de esa camada hacia el aporte de gonadotropinas a los folículos pequeños. Hay dos mecanismos posibles para que se desarrolle esta relación, uno es el indirecto, en el cual el folículo más grande inhibe el crecimiento del resto produciendo sustancias como la inhibina y el estradiol que actúan sobre la hipófisis reduciendo la secreción de FSH a niveles insuficientes para los folículos chicos (Beard et al., 1989; Larson et al., 1991). El otro es directo, por medio de la secreción de factores paracrinos que reducen la sensibilidad de

los folículos pequeños a la FSH. Por ejemplo, el factor de crecimiento epidermal (EGF) actúa en folículos pequeños reduciendo la capacidad de aromatización de las células de la granulosa, mientras que la activina y el EGF actúan sobre células de la teca reduciendo la síntesis de andrógenos (Driancourt 1991).

Este folículo seleccionado ejercerá dominancia sobre el resto de los folículos. La dominancia se refiere al crecimiento selectivo de un folículo y la atresia que éste provoca en los demás. El folículo dominante es más sensible a las gonadotropinas que los demás folículos, por lo que no sufre atresia a pesar de provocar con sus secreciones una reducción en la producción hipofisiaria de FSH. Esto puede ser debido a factores autócrinos, por ejemplo, el factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF1) se encuentra en mayor concentración en los folículos grandes (Echternkamp et al. 1990). El efecto estimulador del líquido folicular, FSH, estradiol y hormona del crecimiento sobre las células de la granulosa están mediados cuando menos en parte por el IGF-1 (Mondschein et al. 1989). En general el IGF-1 parece ser más importante en la diferenciación celular que en la multiplicación celular. Los estrógenos producidos por el folículo interactúan con la FSH para que se produzca IGF, este aumento en la concentración de IGF, aunado a la mayor receptividad de las células de la granulosa para IGF elevan el poder aromatizante y facilitan la aparición de receptores para LH en la granulosa. La ventaja de tener receptores para LH cuando hay bajos niveles de FSH circulantes radica en que ambas hormonas actúan por medio del AMP cíclico (Driancourt 1991).

En cambio, los bajos niveles de FSH causados por la producción de inhibina por el folículo dominante, aunados a los efectos de la folistatina y otros factores paracrinos como prostaglandinas y angiotensina (Xie *et al.*, 1989; Murphy *et al.*, 1991), y sustancias con actividad similar a la renina y prorenina (Schultze *et al.*, 1989), actúan probablemente disminuyendo el flujo sanguíneo hacia folículos menos desarrollados, lo cual provoca la inevitable atresia de éstos.

Hirshfield (1991) propone que la atresia se da en folículos menores que están en crecimiento cuando las células de la granulosa se encuentran en la fase de mayor replicación y necesitan el mayor aporte de oxígeno y nutrientes. Esta situación, aunada al engrosamiento de sus paredes, los pone en insuficiencia de oxígeno, y el folículo no podrá superar esta fase a menos que tenga el suficiente aporte de oxígeno para pasar este momento crucial. Por lo tanto, puede ser que la FSH habilite a las células de la granulosa para sobrevivir en condiciones hipóxicas (Hirshfield 1991). Una vez que superó la fase hipóxica, el folículo dominante no requiere niveles altos de FSH. Un mecanismo por el que el folículo puede sobreponerse a estas condiciones adversas es mediante la producción de factores mitogénicos y angiogénicos por las células de la granulosa del folículo preovulatorio (Redmar *et al.* 1991).

Durante el ciclo estral existen complejas interacciones hipotálamo-pituitario-ováricas que pueden modificar el curso de la foliculogénesis. En el periodo proéstrico, las concentraciones de estradiol en la circulación general aumentan, alcanzando su

pico en el estro, la LH aumenta después de la caída de los niveles de progesterona y el cese de la retroalimentación negativa que ésta ejerce. La secreción de LH durante el proestro se caracteriza por aumento de la frecuencia y disminución en la amplitud de la liberación pulsátil de LH. Cada pulso de LH es seguido por un incremento en la concentración de estradiol en la vena ovárica (Hansel y Convey, 1983; Stumpf *et al.*, 1989).

La LH y la FSH son liberadas simultáneamente cerca del inicio del estro. El estímulo para esta liberación es el incremento en las concentraciones de estradiol en el periodo preovulatorio.

La LH es secretada en forma pulsátil durante la fase lútea, pero el estradiol y la progesterona juntos ejercen una inhibición sobre la liberación de LH en la vaca y oveja. La progesterona sola provocará secreción de LH en baja frecuencia y alta amplitud, mientras que el estradiol por si solo provoca liberación en alta frecuencia y baja amplitud de LH. Aparentemente la caída de progesterona es un prerequisite para que el estradiol cause el pico de gonadotropinas (Kesner *et al.*, 1981).

Según Hansel y Convey (1983), el mecanismo por el cual el estradiol causa el pico de gonadotropinas puede ser debido a la capacidad aumentada de los gonadotropos de la pituitaria para liberar FSH y LH en respuesta a la GnRH, aumento de autoestimulación de la GnRH, y por un mecanismo de constante estimulación en el hipotálamo que libera GnRH e induce el pico de gonadotropinas.

Al término del pico preovulatorio de LH y FSH, la hipófisis

entra en un periodo refractario durante el cual la glándula es incapaz de responder al GnRH, a pesar de un contenido normal de gonadotropinas.

En el periodo inmediato después del pico de gonadotropinas hay un disminución marcada de los niveles de estradiol circulante. La progesterona, LH y FSH se encuentran en niveles basales en este periodo (Brinkley, 1981). Aproximadamente 24 horas después del pico ovulatorio de gonadotropinas hay un aumento secundario en los niveles de FSH, este incremento debe tener influencia sobre el reclutamiento de folículos primordiales para el siguiente ciclo (Turzillo y Fortune, 1990).

### 2.3 ULTRASONOGRAFIA Y PALPACION RECTAL DE LOS OVARIOS

El diagnóstico ultrasonográfico es el mayor avance tecnológico en el campo de la investigación y clínica de la reproducción desde la introducción de la palpación rectal y el radioinmunoanálisis para medir hormonas circulantes (Ghinter 1986). Esta tecnología permite la visualización no invasiva de los órganos reproductivos, y ha hecho posible el estudio dinámico de las interacciones en la población folicular. Por medio de esta técnica, es posible identificar con mayor eficiencia el cuerpo lúteo, y folículos tan pequeños como dos o tres mm. de diametro, además de cuantificarse y seguirse con mayor precisión, ya que pueden evaluarse de manera secuencial.

Pierson y Ghinter (1987, 1988) encontraron que el ultrasonido es 100 % certero en el diagnóstico del cuerpo lúteo en los días 12 y 14 del ciclo estral, y que se puede visualizar esta estructura desde etapas tempranas de su formación hasta incluso el día de la siguiente ovulación. De igual manera, en la visualización de folículos, el ultrasonido tuvo una correlación de 0.92 con el número de folículos contados al diseccionar los ovarios (Pierson y Ghinter, 1987). Sin embargo, el costo de este equipo, aunado a las instalaciones y cuidados necesarios en su manejo lo hacen un recurso impráctico para la clínica reproductiva diaria, siendo la palpación rectal el método mas eficiente bajo estas circunstancias.

La palpación rectal ha sido evaluada en repetidas ocasiones comparándola contra niveles hormonales que indiquen la presencia del cuerpo lúteo (Hussein *et al.*, 1992; Plunkett *et al.*, 1984; Vaca *et al.*, 1983), y los resultados obtenidos varían

grandemente. Esta variación en los resultados puede ser debida a que estos trabajos son realizados en diferentes lugares geográficos, con razas distintas, condiciones variables de manejo de los animales, y probablemente la incidencia de cuerpos lúteos en los hatos trabajados cambie de un estudio a otro.

La exactitud de una prueba diagnóstica es medida por su sensibilidad, especificidad, valor predictivo y eficiencia (Galen 1979), la sensibilidad y la especificidad son características propias de la prueba, sin embargo el valor predictivo y la eficiencia de la prueba son características que se ven afectadas por la incidencia del evento estudiado en la población dada. Es por esto que los resultados publicados sobre eficiencia en la palpación varían en forma considerable, por lo que para realizar comparaciones válidas entre estudios se debe calcular el valor predictivo a niveles de incidencia estandarizados.

# EVALUACION DE LA ACTIVIDAD OVARICA EN NOVILLONAS CEBU Y CEBU-HOLSTEIN DURANTE LOS MESES DE MARZO A JUNIO EN EL TROPICO HUMEDO DE MEXICO

## INTRODUCCION

El bovino es considerado como un animal con ciclo estral de tipo poliéstrico continuo. Sin embargo, en el caso del ganado bovino productor de carne existen variaciones estacionales en la reproducción en distintas partes del mundo, y ésta estacionalidad es más manifiesta en los trópicos (Galina y Arthur, 1989b). En efecto, Escobar et al. (1982) encontraron que el 40% de los partos se concentraron en los meses de marzo, abril y mayo en los bovinos explotados en el trópico a pesar de la presencia del toro durante todo el año. De igual manera, Enriquez (1991), en un estudio reciente donde se analizaron 15 años de registros reproductivos de una explotación en el trópico mexicano, encontró mayor frecuencia de nacimientos en el primer trimestre del año (55.7 %) comparado con el resto del año (44.3%) ( $p < 0.01$ ).

Un efecto estacional similar se observa en las novillonas que están alcanzando su madurez sexual en una época poco propicia para su desarrollo. Así, Stahringer et al (1990) encontraron una elevada proporción de anormalidades en el ciclo estral de novillonas Brahman durante los meses de octubre a marzo, siendo más común la presencia de estro sin formación de cuerpo luteo y el anestro. El posible efecto estacional observado por Stahringer et al (1990) podría ser debido a un efecto sobre la foliculogénesis, ya que éste es un proceso continuo que se inicia activamente desde varias semanas antes de la pubertad y no es



interrumpido normalmente bajo condiciones fisiológicas. Sin embargo, dichos autores no realizaron palpación rectal ni estudios ultrasonográficos, por lo que no es posible saber si las estros sin elevación de progesterona se debieron a un evento puramente conductual sin desarrollo folicular, si hubo desarrollo folicular sin llegar a ovular, o si se produjo la ovulación pero no se estableció un cuerpo luteo funcional.

A pesar de la evidencia de que el ganado cebuino es afectado en su reproducción por condiciones estacionales, el ganado europeo productor de leche es capaz de ciclar y concebir a lo largo de todo el año bajo condiciones de clima templado (Hafez, 1987). Sin embargo, queda por aclarar si la cruce de Holstein con Cebú, bajo condiciones de trópico se comporta como ganado europeo o indico.

Por esta razón, en el presente trabajo se estudia la dinámica ovárica en vaquillas Cebú y Holstein-Cebú durante los meses de Marzo a Junio, con el objeto de determinar la existencia de un incremento en la actividad ovárica entre los meses de marzo a junio, que refleje un posible efecto estacional de los meses de invierno, mediante la utilización seriada del ultrasonido y determinaciones de progesterona plasmática.

#### MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el Centro de Investigación, Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical (CIEEGT), perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, y en el

predio del que fué el Centro de Cría y desarrollo Ganadero, finca "La Soledad" ubicados en Martínez de la Torre, Veracruz, localizado a 151 msnm, a 20° 4' de latitud Norte y 97° 3' de longitud Oeste, con clima Af (w) (García 1981), y precipitación promedio anual de 1980.7 ± 431.5 mm., y temperatura media de 23.8 °C (Boletín informativo CIEEGT FMVZ. UNAM. 1985/1986).

Para la realización del trabajo se utilizaron 16 novillonas Gyr no gestantes de entre 24 y 36 meses de edad, pertenecientes al predio de "La Soledad", y 7 novillonas Holstein-Cebú obtenidas por cruzamiento entre Holstein y Cebú hasta un nivel de 5/8 Holstein y 3/8 Cebú, de 18 a 30 meses de edad, ubicadas en el CIEEGT, bajo sistema de pastoreo libre en praderas implantadas con estrella africana (*Cynodon dactylum*). Los animales Cebú fueron mantenidos junto con sementales, mientras que las novillonas Holstein-Cebú fueron mantenidas junto con un macho celador con el pene desviado.

A estos animales se les realizó evaluación ultrasonográfica de la actividad ovárica dos veces por semana de Marzo a Julio, anotándose el número y tamaño de folículos presentes en cada ovario, así como, en su debido caso, la presencia de estructuras lúteas, cuerpo hemorrágico (CH) o cuerpo luteo (CL). Para esta evaluación se utilizó un ultrasonido Tokio Keiko LS1000, con transductor de arreglo lineal de 7.5 Mhz. Para realizar la ultrasonografía se extrajo el material fecal, posteriormente se introdujo vía rectal el transductor bañado en gel de conducción (Ultra/phonic, Pharmaceutical innovations inc., New Jersey) envuelto en un guante de palpación. El transductor se movió

lateralmente siguiendo el borde dorsal del útero hasta localizar al ovario y examinarlo sin manipular directamente a éste o al aparato reproductivo (Pierson y Ginther, 1988).

Cada vez que se realizó ultrasonido, se tomó una muestra de sangre para determinar la concentración de progesterona plasmática, y así detectar la aparición del primer cuerpo lúteo y calcular la duración funcional de ésta estructura durante cada ciclo.

La sangre se obtuvo por punción de la vena o arteria coccigea, utilizando tubos al vacío heparinizados. Las muestras se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 minutos para separar el plasma, el cual fue colocado en tubos de vidrio en congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento por la técnica de radioinmunoanálisis de fase sólida (Srikandakamur *et al.* 1986). Se consideró que existía un cuerpo lúteo funcional si la concentración de progesterona en la muestra fué mayor a 1 ng/ml. Los coeficientes de variación intraensayo fueron 5.93 y 5.91%, para los controles alto y bajo respectivamente, y el coeficiente de variación interensayo fue de 12.5 para el control alto y 11%, para el control bajo. La sensibilidad mínima del ensayo fue de 0.094 ng/ml.

El día del estro fué definido como el día en que el animal mostraba signos de estro al momento de la revisión, o bien como el día intermedio entre dos revisiones en las cuales la concentración de progesterona se encontraba por debajo de 1 ng/ml. Además, durante este periodo se tenía que notar una reducción del tamaño del cuerpo luteo con aumento de la ecogenicidad del mismo, y a la siguiente revisión debería existir

la presencia de un cuerpo hemorrágico o una elevación de la progesterona por arriba de 1 ng/ml.

Se consideró que un animal se encontraba en anestro (A) si durante todo el mes los niveles de progesterona se mantuvieron constantemente por debajo de 1 ng/ml, si no se detectó CL en alguno de sus ovarios por ultrasonido, si no mostró estro, y no tuvo evidencia de ovulación al exámen ultrasonográfico (i.e. cuerpo hemorrágico). Se clasificó como animales en transición (T) a aquellas novillonas en las que no se formó un CL a pesar de haber formado un cuerpo hemorrágico en alguno de sus ovarios, haber tenido elevaciones transitorias de progesterona o haber mostrado celo. Se clasificó como animales ciclando (C), a las que tuvieran ciclos de desarrollo e involución morfológica de CL aunados a un aumento en las concentraciones de progesterona por arriba de 1 ng/ml durante un periodo mayor a 12 días. Cuando se detectaba la gestación, se calculaba la edad gestacional y retrospectivamente se calculaba el día en que el animal tuvo el celo en el que quedó gestante, clasificándose a partir de ese momento como animal gestante (G). Una vez que el animal era diagnosticado como gestante no se consideraba más en el grupo experimental.

Con el fin de realizar la comparación de la proporción de animales ciclando y anéstricos en las hembras Cebú y las Holstein-Cebú se utilizó la prueba de ji cuadrada. Con el fin de probar la tendencia de los animales a comenzar a ciclar al pasar los meses entre marzo y julio, se utilizó la prueba de S combinada de varianza diferente con empates (Leach, 1982). En

caso de que el animal fuera clasificado en dos estados fisiológicos en diferentes momentos del mismo mes, se tomó solo el periodo que indicara el estado de actividad reproductiva más avanzado. En caso de que quedara gestante se tomó como ciclando para ese mes. Para probar diferencias en las proporciones de animales que quedaron gestantes entre los meses de marzo a junio se realizó la prueba de Jonckhere (Leach, 1982).

Para evaluar la diferencia en la concentración de progesterona por mes y por raza se utilizó un modelo estadístico correspondiente a un análisis de varianza con mediciones repetidas, con el efecto del animal anidado dentro de la raza (Littell et al. 1992), incluyendo como fuentes de variación la raza (Cebú o Holstein-Cebú), el efecto del individuo dentro de la raza, el mes (marzo a julio), y la interacción de raza por mes. Para evaluar el efecto de la raza se utilizó como error el efecto de individuo dentro de la raza; y para el efecto del mes y de la interacción de mes por raza se utilizó el error del modelo. Posteriormente se llevó a cabo el mismo análisis unicamente para los animales que estaban ciclando. Para detectar la diferencia entre parejas de meses se utilizó la prueba de comparaciones multiples de Tukey.

## **RESULTADOS**

En el cuadro 1 se muestran los animales que participaron en el experimento, clasificándose de acuerdo al estado reproductivo en el que se encontraron en cada uno de los meses que duró el experimento. Conforme transcurrió el tiempo todos los animales Cebú progresaron hacia estados reproductivos indicativos de mayor

actividad ovárica, a excepción de los Cebú 170 y 302, los cuales ya estaban ciclando al inicio del experimento y sin embargo no quedaron gestantes durante el mismo. Todos los animales Holstein-Cebú se encontraron ciclando desde el inicio del experimento.

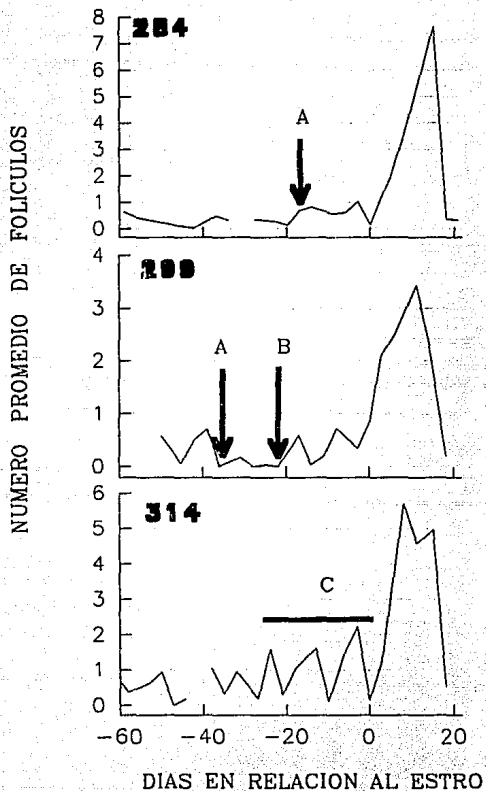
CUADRO 1. ANIMALES QUE PARTICIPARON EN EL EXPERIMENTO Y ESTADO REPRODUCTIVO EN QUE SE ENCONTRARON ENTRE LOS MESES DE MARZO A JULIO.

identificación	raza	marzo	abril	mayo	junio	julio
170	Cebú	C	C	C	-	-
202	Cebú	A	A	-	C	C
208	Cebú	C	C	G		
248	Cebú	A	A	T	G	
262	Cebú	A	A	G		
280	Cebú	A	A	A	A	C
283	Cebú	A	A	G		
284	Cebú	A	T	C	C	C
299	Cebú	T	T	C	C	C
302	Cebú	C	C	C	C	C
307	Cebú	T	T	C	G	
308	Cebú	A	A	A	T	
314	Cebú	A	T	C	G	
325	Cebú	T	T	G		
330	Cebú	A	A	-		
331	Cebú	A	A	A	T	C
16	C-H	C	C	C		
29	C-H	C	C	C		
31	C-H	C	C	C		
42	C-H	C	C	C		
65	C-H	C	C	C		
66	C-H	C	C	C		
68	C-H	C	C	C		

Tres de los animales Cebú que estaban en anestro al inicio del experimento empezaron a ciclar sin antes tener indicios de una transición hacia una mayor actividad ovárica (animales 262, 280 y 283). El 50% de los animales tuvo indicios de mayor actividad ovárica (transición) antes de comenzar a ciclar, la duración de este periodo de transición varió de 12 a 69 días

días, durando en promedio  $31.4 \pm 19.9$  días. En cuatro de los animales, los periodos de transición se caracterizaron por elevaciones transitorias de progesterona sin ovulación ni la presencia física de cuerpo luteo (ver ejemplo en gráfica 1). En tres casos hubo signos de estro sin la posterior formación de cuerpo luteo (ver ejemplo en gráfica 1), en los tres casos este celo estuvo acompañado por la presencia de 1 o 2 folículos mayores a 6 mm. y por un folículo mayor a 12 mm. en dos de los casos. En 2 animales se detectó por ultrasonido la presencia de un cuerpo luteo con alta ecogeneidad (similar a la de un cuerpo albicans) en un ovario sin aumento en la progesterona circulante, y en 2 casos se observó la ovulación y formación de un cuerpo hemorrágico que no formaba un cuerpo luteo posteriormente.

En el cuadro 2 se muestra el número y el porcentaje de los animales Cebú en anestro, transición y ciclando en cada mes. En dicho cuadro se consideró a los animales gestantes como ciclando, asumiendo que de no haber sido servidos se hubieran mantenido ciclando. Se aprecia que en el mes de marzo la mayor parte de los animales (62.5%) se encontraban en anestro y la proporción de animales en transición (18.8%) y ciclando era más baja (18.8%). Para el mes de abril, algunos de los animales anéstricos pasaron a ser animales en transición, estos animales comenzaron a ciclar para el mes de mayo, junto con otros dos animales que del anestro comenzaron a ciclar, sin pasar por un periodo de transición. En el mes de junio el mayor porcentaje (70%) de las novillonas estaba ciclando y para el mes de julio todos los animales que continuaban en el estudio estaban ciclando o gestantes. La tendencia a avanzar en el estado reproductivo fue altamente



- A. ESTRO SIN FORMACION DE CUERPO LUTEO
- B. CUERPO HEMORRAGICO
- C. ELEVACION DE PROGESTERONA

Grafica 1. Concentración de progesterona plasmática en un animal (284) que tuvo un estro (A) sin formación de CL, otro animal (299) que presentó estro sin formación de CL (A) y cuerpo hemorrágico sin elevación de progesterona, y otro animal (314) con elevación transitoria de progesterona sin la presencia de una estructura lutea en los ovarios.



significativa ( $p < 0.0001$ ). No se presentó ningún caso de retroceso en la actividad reproductiva (i.e. donde un animal que ya estuviera ciclando dejara de hacerlo).

CUADRO 2. NUMERO Y PORCENTAJE DE ANIMALES CEBU EN ANESTRO, EN TRANSICION Y CICLANDO EN LOS DIFERENTES MESES DEL EXPERIMENTO

Clasificación	marzo	abril	mayo	junio	julio
anestro	n=10 62.5%	n=8 50 %	n= 3 21.4%	n=1 10 %	n=0 0 %
transición	n=3 18.8%	n=5 31.3%	n=1 7.1%	n=2 20 %	n=0 0 %
ciclando	n=3 18.8%	n=3 18.8%	n=10 71.4%	n=7 70 %	n=6 100 %

Existe tendencia a avanzar en el estado reproductivo al avanzar los meses  $p < 0.0001$ .

La diferencia en la proporción de animales Cebú que quedan gestantes se muestra en el cuadro 3. En los meses de marzo y abril ningún animal quedó gestante, de las novillonas que estaban vacías al iniciarse el mes 4 de ellas quedaron gestantes en el mes de mayo (28.6%) y 3 en junio (30%). Esta diferencia fue altamente significativa ( $p < 0.002$ ). Los animales Holstein-Cebú se encontraron ciclando desde el inicio del experimento, siendo la proporción de animales ciclando distinta a la de las novillonas Cebú ( $p < 0.01$ ).

No se encontraron efectos de raza ni de la interacción del mes con la raza sobre las concentraciones de progesterona ( $p_4$ ) al incluir a todos los animales (ciclando y no ciclando). Cuando se consideraron únicamente los animales ciclando, tampoco se

encontró diferencia entre las razas, ni interacción del mes con la raza ( $p > 0.05$ ).

CUADRO 3. NUMERO Y PORCENTAJE DE ANIMALES CEBU QUE QUEDAN GESTANTES Y NO GESTANTES EN LOS MESES DE MARZO A ABRIL.

Casificación	marzo	abril	mayo	junio
No Gestante	n=16 100 %	n=16 100 %	n=10 71.4%	n=7 70 %
Gestante	n=0 0 %	n=0 0 %	n=4 28.6%	n=3 30 %

La proporción de animales que quedan gestantes aumenta al pasar los meses  $p < 0.002$ .

En el cuadro 4 se muestra el nivel de progesterona sérica como promedio mensual, para los meses de marzo a julio en hembras ciclando y anéstricas o en transición. La cantidad de progesterona circulante varió entre los meses de marzo y mayo al incluir a todos los animales del estudio. Entre los animales ciclando no existieron diferencias entre meses.

CUADRO 4. PROMEDIO DE PROGESTERONA SERICA MENSUAL EN NOVILLONAS CEBU Y HOLSTEIN-CEBU COMPARANDO TODAS LAS HEMBRAS DEL ESTUDIO CICLANDO, ANESTRO O EN TRANSICION (C/A/T), CON SOLO LAS HEMBRAS CICLANDO.

MES		MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO
P4 ng/ml	C/A/T	1.28 a	1.38 ab	1.84 b	1.86 ab	2.00 ab
	CICLANDO	2.82	2.86	2.58	2.69	2.37

Literales distintas entre renglones son diferentes significativamente ( $p < 0.05$ ).

## DISCUSION

Los resultados del presente estudio parecen indicar que en el trópico el ganado Holstein-Cebú mantiene su actividad ovárica durante el invierno, mientras que el ganado Cebú muestra disminución de la actividad ovárica invernal que se recupera entre los meses de marzo a junio. El 100% de los animales Holstein-Cebú estaba ciclando al inicio del experimento, esto puede ser debido a que estos animales se comportan en forma más similar al ganado europeo que al ganado cebuino. Sin embargo, Martínez et al. (1988) encontró que vacas Bos indicus X Bos taurus con mala nutrición tiende a tener sus partos durante la primavera, mientras que las vacas con buena nutrición tienen la mayor parte de sus partos en el invierno.

Day et al. (1986), Fulkerson y Dickens (1985), y Hauser (1984), han encontrado efectos estacionales en ganado europeo, sin embargo parece que a diferencia de lo que ocurre en ganado Cebú, las condiciones mas desfavorables para el ganado europeo en condiciones tropicales se presentan durante el verano (Galina y Arthur, 1990), al aumentar la temperatura ambiente considerablemente y los animales se enfrentan a una situación de estrés térmico (Hauser, 1984). El presente experimento no incluyó los meses más cálidos del año, por lo que probablemente no se detectó un efecto estacional sobre la reproducción del ganado Holstein-Cebú.

Los animales Cebú estaban ciclando en solo un 18% al inicio del experimento, lo que concuerda con los resultados de Plasse et al. (1968) y Staringher et al. (1990), quienes encontraron que en

el ganado Cebú hay una reducción del porcentaje de animales ciclando en los meses del año que no les son favorables.

La proporción de animales Cebú ciclando, así como el número de animales gestantes, fue en aumento en los meses de abril, mayo y junio. Para el mes de julio, todos los animales que seguían dentro del estudio se encontraban ciclando. Esto puede indicar que en el ganado Cebú existe una reducción en la actividad ovárica durante el invierno, la cual es seguida por una etapa de transición primaveral para alcanzar la mayor actividad reproductiva durante el verano.

En ocho de los animales Cebú se produjo una transición gradual entre el anestro y la ciclicidad. Durante esta transición existió una aparente desincronización entre los eventos endócrinos y ováricos necesarios para que se establezcan los ciclos estrales normales. En 4 de 16 animales hubo un incremento transitorio en la cantidad de progesterona circulante sin que hubiera un CL en algún ovario; este evento ha sido observado durante la transición hacia el inicio de actividad ovárica en ovejas (Sutama et al., 1988; Rodríguez, 1991), y es probablemente debido a la luteinización de algunos folículos. La presentación de signos de estro asociados a la presencia de folículos medianos o grandes, sin la posterior presencia de CL o CH en algún ovario se presentó en 3 de 16 novillonas Cebú. Tanto la falta de ovulación como la luteinización de folículos podría deberse a una inadecuada secreción de LH o a una falta de sincronía entre el desarrollo folicular y el pico preovulatorio de LH. Anteriormente, Sutama et al. (1990), encontraron estros anovulatorios en ovinos, y Narasimha (1982) en bovinos.

En el presente estudio se encontró en algunos animales Cebú la presencia de cuerpos hemorrágicos o cuerpos luteos detectables ultrasonográficamente pero sin estar acompañados de progesterona plasmática elevada. Existiendo la posibilidad de la formación de un cuerpo luteo de corta duración y baja funcionalidad, que resultará en la producción de bajos niveles de progesterona que solo hubiesen sido detectados con muestreos más frecuentes.

Además de las alteraciones encontradas en este estudio, otros autores han encontrado ovulaciones silenciosas producto de efectos medioambientales (Plasse et al., 1968; Narasimha, 1982; Randel, 1984; Lamothe et al., 1991a), sin embargo en el presente estudio no se realizó detección de calores, por lo que no se pudo calcular la incidencia de esta alteración.

Las alteraciones encontradas en el presente estudio podrían deberse al ambiente endócrino presente durante el anestro y la época de transición. Dicho ambiente se caracteriza por la ausencia de progesterona y una secreción de pulsos de LH con frecuencia y amplitud alterada. Como consecuencia, la formación de un folículo puede sufrir diferentes alteraciones, pudiendo formarse un folículo que secrete suficientes cantidades de estrógenos para causar signos de estro, pero insuficientes para causar el pico preovulatorio de LH, produciéndose estros sin ovulaciones. Otra posibilidad es que el folículo por medio de la secreción de estrógenos, si desencadene el pico preovulatorio de LH, pero en cantidad insuficiente o en un momento inadecuado para causar ovulación. En otros casos puede no producirse la

ovulación, pero si llegar a luteinizarse los folículos presentes en el ovario, produciéndose las elevaciones de progesterona observadas antes de iniciar un ciclo. En caso de que si se presente la ovulación, puede ocurrir que no hay LH para que se forme un CL o para que se mantenga, lo que explicaría la presencia de estros sin la subsecuente formación de CL. Inskeep *et al.* (1988), encontraron que puede ocurrir que el pico de LH sea suficiente para causar la ovulación y luego haya secreción de LH en forma pulsátil para que se desarrolle el CL, pero que por haberse desarrollado el folículo sin presensibilización con progesterona no forme un CL normal y de como resultado un ciclo de corta duración.

A pesar de todo lo anterior 8 de las 16 novillonas Cebú tuvieron su primer ciclo estral normal sin antes haber mostrado las alteraciones anteriores, lo que indica que es posible tener un inicio relativamente abrupto de la actividad ovárica.

Existió una tendencia creciente altamente significativa en la proporción de animales Cebú que quedaron gestantes al avanzar los meses, indicando que hay mayor fertilidad de este ganado en los meses más cálidos, lo cual está de acuerdo a otros investigadores (Voh *et al.*, 1987; Zakari *et al.*, 1981) que han encontrado una mayor fertilidad durante el verano para ganado Cebú. Sin embargo, en búfalos se encontraron diferencias estacionales en la fertilidad, pero estas diferencias desaparecieron cuando se controló el nivel nutricional de las dos estaciones en que se trabajó, indicando esto que el balance energético en los animales puede ser un importante factor en el desempeño reproductivo (Putu *et al.*, 1986). Sin embargo, se

podría especular que si el efecto estacional encontrado en el presente trabajo se debiera a una mala nutrición durante la primavera, se presentaría también en los animales Holstein-Cebú y no solo en Cebú.

No hubo efecto del mes sobre las concentraciones de progesterona de los animales que estaban ciclando en cada mes, indicando que una vez que los animales comienzan a ciclar se produce una actividad lútea normal independiente del mes del año. En cambio, si hubo diferencias entre meses en los niveles de progesterona promedio de todos los animales (ciclando y no), lo que era de esperarse al aumentar la proporción de animales ciclando. Estos resultados concuerdan con lo informado por Rubio et al. en vacas Cebú (1989), quienes encuentran una tendencia a disminuir el nivel medio de progesterona durante los meses de invierno.

Se concluye que una proporción significativa de los animales Cebú que dejaron de ciclar durante los meses de invierno comienzan a ciclar gradualmente entre los meses de marzo a junio. Este efecto no se observó en la craza Holstein-Cebú, sugiriendo que este ganado al nivel de cruzamiento con el que se trabajó (5/8) tiene un comportamiento más parecido al ganado europeo.

# FOLICULOGENESIS DURANTE EL ANESTRO, CICLOS ESTRALES Y TRANSICION DEL ANESTRO A CICLOS ESTRALES EN NOVILLONAS CEBU.

## INTRODUCCION

La foliculogénesis es un proceso que se inicia desde etapas muy tempranas de la vida del animal, y es continuo durante casi toda la vida del mismo, dos semanas después del nacimiento existen folículos en todas sus etapas de desarrollo, a excepción de folículos de Graaf (Seidal y Niswender, 1980), particularmente en bovinos Dobson y colaboradores (1989) encontraron folículos antrales a las dos semanas de edad.

El desarrollo folicular muestra un patrón de oleadas desde antes de la pubertad (Roche y Boland, 1991). En cada oleada, un conjunto de folículos comienza su desarrollo, para que posteriormente uno de ellos se vuelva dominante, inhibiendo el crecimiento de los demás, cuando este folículo dominante deje de serlo, comenzará otra oleada de crecimiento folicular (Driancourt, 1991). Una vez que se establece la ciclicidad de los animales, el crecimiento folicular también ocurre en oleadas, siendo lo más común encontrar de 2 a 3 ondas foliculares por ciclo estral (Sirois y Fortune, 1990; Pierson y Ginther, 1988; Taylor y Rajamahendran, 1991). En animales gestantes la foliculogénesis continua con el mismo patrón de desarrollo en cuanto a la duración de las oleadas foliculares, pero éste se ve afectado por el feto conforme la gestación avanza (Driancourt et. al., 1991; Taylor y Rajamahendran, 1991). En el periodo posparto, la actividad folicular se restablece casi inmediatamente después



del parto, observándose el primer folículo dominante alrededor del día 10 posparto (Murphy et. al., 1990); sin embargo la primera ovulación generalmente se observa hasta los 35 días posparto.

Existen especies estacionales donde la foliculogénesis cesa, o cuando menos disminuye en intensidad, no llegando los folículos a alcanzar su máximo desarrollo en determinadas épocas. Un ejemplo de esto se encuentra en los ovinos (Cahill, 1981), o en los equinos (Ginther, 1990). El bovino es considerado una especie que cicla y concibe durante todo el año. Sin embargo, en el ganado Bos taurus existen cambios fisiológicos en sus funciones reproductivas dependientes de variaciones climáticas (Hauser, 1984; Tucker, 1982), estas variaciones son aún más notorias cuando se trata de ganado Bos indicus (Randel, 1984; Voh et al, 1987; Zakari et. al., 1981), siendo común encontrar animales en anestro o estros silenciosos durante la época de invierno (Lamothe, 1991b).

Esta disminución en la actividad ovárica podría verse reflejada en diferencias en la dinámica folicular en distintas épocas del año.

#### **OBJETIVO**

1.- Determinar si durante el periodo de anestro y durante la transición entre anestro a ciclos estrales existen diferencias en el desarrollo folicular.

2.- Determinar tanto en el ganado Cebú, como en su cruce con Holstein (5/8), si el desarrollo folicular se presenta en forma de oleadas y cuantas de ellas se presentan por ciclo estral.

## MATERIAL Y METODOS

Para el presente trabajo se utilizaron 16 novillonas Cebú Gyr entre 24 y 36 meses de edad, pertenecientes al predio de "La Soledad" y 7 novillonas Holstein-Cebú de 18 a 30 meses de edad (5/8), ubicadas en el CIEEGT, en Martínez de la Torre, Veracruz, localizado a 151 msnm, a 20° 4' de latitud Norte y 97° 3' de longitud Oeste, con clima Af (w) (6) y precipitación promedio anual de 1980.7 ± 431.5 mm, y temperatura media de 23.8 °C (Boletín informativo CIEEGT 1985/1986).

A estos animales se les practicó estudio ultrasonográfico de los ovarios dos veces por semana, durante los meses de Marzo a Julio, anotándose el número de folículos presentes en cada ovario, así como la presencia de estructuras lúteas. Los folículos fueron medidos y clasificados según su diámetro en folículos menores de 6mm. (F1), folículos entre 7 y 12 mm. (F2) y folículos mayores de 12 mm. (F3). Se utilizó un ultrasonido Tokio Keiko LS1000, con transductor de arreglo lineal de 7.5 Mhz, siguiendo el método anteriormente descrito (capítulo III). Además de los datos anteriores, se tomó nota si alguno de los animales presentaba signos de estro al momento de la revisión (i.e. escurrimiento de moco por la vulva aunado a tono uterino y actividad de monta con alguna de sus compañeras).

Además del estudio ultrasonográfico, se tomó una muestra de sangre por punción de la vena o arteria coccigea con tubos heparinizados al vacío para determinar la concentración de progesterona plasmática, con el fin de detectar por medio de la progesterona si en el momento de realizar la ultrasonografía

existía un cuerpo lúteo funcional. Para la toma de muestras y la determinación de progesterona se siguió el método descrito en el capítulo III.

Se consideró como día 0 del ciclo estral el día en que un animal tuviera signos de estro genital o conductual al momento de la revisión, o bien como el día intermedio entre dos revisiones en las cuales ocurriera el descenso de la concentración de progesterona por debajo de 1 ng/ml, aunado a la reducción del tamaño del cuerpo lúteo con aumento de la ecogenicidad del mismo seguido por la presencia de un cuerpo hemorrágico a la revisión siguiente o elevación de la progesterona por arriba de 1 ng/ml dentro de los 5 días posteriores.

La diferencia entre razas y meses en el número de folículos F1, F2 y F3 se utilizó un modelo estadístico correspondiente a un análisis de varianza con el efecto del animal anidado dentro de la raza, con mediciones repetidas (SAS, System for linear models), incluyendo como fuentes de variación la raza (Cebú o Holstein-Cebú), el efecto del individuo dentro de la raza, el mes (marzo a julio), y la interacción de raza por mes. Para evaluar el efecto de la raza se utilizó como error el efecto de individuo dentro de la raza; y para el efecto del mes y de la interacción de mes por raza se utilizó el error del modelo. Posteriormente se llevó a cabo el mismo análisis únicamente para los animales que estaban ciclando. Para detectar la diferencia entre parejas de meses se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Steel y Torrie, 1980).

Los animales fueron clasificados según el estadio de su

funcionamiento ovárico en animales anéstricos, animales en transición y animales ciclando, basado en la concentración de progesterona, presencia de cuerpo hemorrágico o cuerpo lúteo en alguno de sus ovarios, pudiendo pasar de una categoría a otra al cambiar su funcionamiento ovárico (capítulo III).

Con el fin de conocer la dinámica folicular en relación al inicio de la actividad ovárica, se ajustaron los periodos de anestro y transición al día del inicio del primer ciclo estral de duración normal (día 0). La foliculogénesis en el periodo previo al inicio de la ciclicidad fue estudiado comparando el número promedio de F1, F2 y F3 en periodos de siete días, y realizando un análisis de varianza para estos periodos. Además se realizó un análisis de regresión acumulando el número de folículos presentes en las quince observaciones previas al día 0, para las tres categorías foliculares. Dentro del modelo se incluyó el estado reproductivo (anestro, transición ó ciclando), el individuo anidado dentro del estado reproductivo, el día en relación al día del inicio del primer ciclo estral y la interacción del estado reproductivo con el día.

Para estudiar los eventos foliculares durante el ciclo estral, de los animales ciclando regularmente, se obtuvieron los 10 días anteriores y posteriores al estro, calculandose el promedio de F1, 2 y 3 y se realizó un análisis de varianza.

Se hizo un análisis de varianza de un solo factor para ver la diferencia en la cantidad de F1, F2 y F3 según el estado reproductivo en que estaban los animales (anestro, transición y ciclando) y de estas variables de acuerdo a la presencia o ausencia de un cuerpo lúteo activo (progesterona > 1ng/ml.). Para

estos análisis en caso de existir diferencia se utilizó el método de Tukey para detectar diferencias entre grupos.

Para conocer el efecto que tienen los folículos de una categoría sobre el desarrollo de los folículos de menor categoría se realizó un análisis de regresión, teniendo como variable dependiente el número de folículos de la categoría de interés, y como variables independientes el día, el número de folículos de las categorías superiores, y la interacción del día con el número de folículos.

## RESULTADOS

Al finalizar el estudio fueron registrados cuatro periodos de anestro, ocho periodos de transición y 23 ciclos estrales en ganado Cebú. En ganado Holstein-Cebú se registraron 18 ciclos estrales.

No se encontraron efectos de raza ni de la interacción del mes con la raza sobre el número de F1, F2, F3 para todos los animales (ciclando y no ciclando). Cuando se consideraron únicamente los animales ciclando, tampoco se encontró diferencia entre las razas, ni interacción del mes con la raza ( $p > 0.05$ ).

En el cuadro 1 se muestran el número de folículos en las distintas categorías para los meses de marzo a julio. Al incluir a todos los animales (ciclando, anestro y transición), los F1 muestran diferencias ( $p < 0.05$ ) entre el mes de marzo (14.9) y los meses de abril, mayo y junio (17.7, 17.6 y 16.7). En cambio, los F2 y F3 no tuvieron diferencias entre meses ( $p > 0.05$ ). En cuanto a los animales ciclando, hubo diferencia en el número de

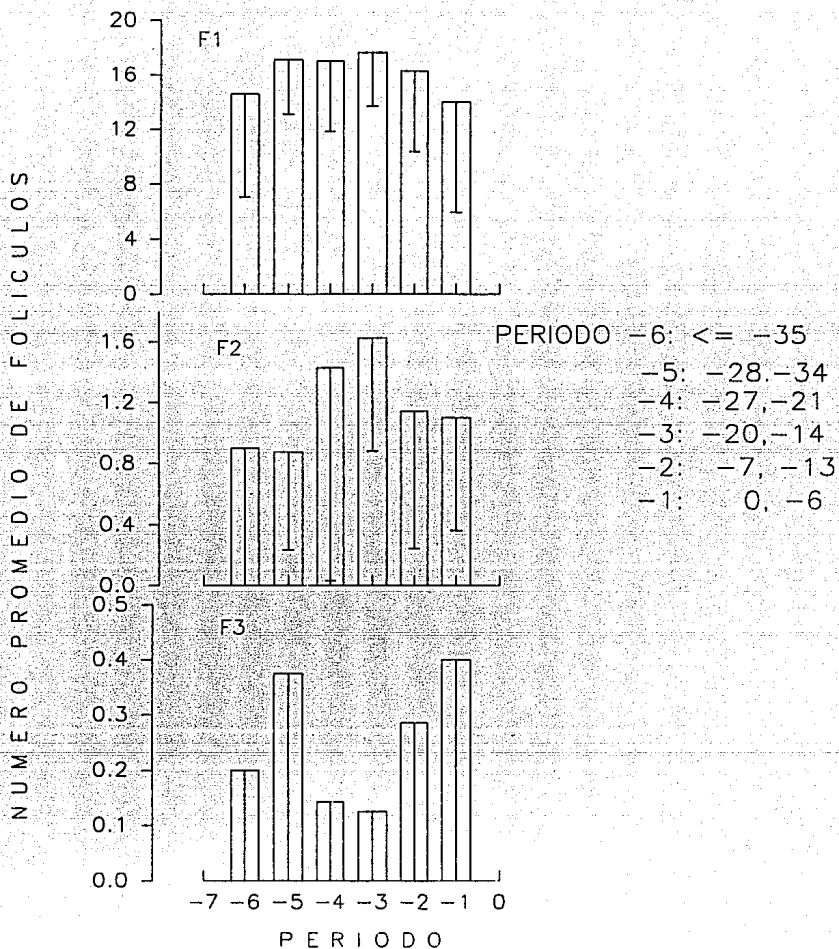
F1 entre el mes de marzo y el mes de abril (15.3 y 17.6  $p < 0.05$ ). En la categoría de F2 hubo diferencia en los animales ciclando entre el mes de marzo (1.4) y los meses de abril (0.9) y junio (0.89). Es interesante notar que los animales ciclando tienen menos F2 que todo el conjunto de animales (ciclando, anestro y transición). En F3 no hubo diferencias entre meses ( $p > 0.05$ ).

El número promedio de folículos de los cuatro animales en anestro es presentado en la gráfica 1 por periodos de 7 días, tomándose el día del inicio de la ciclicidad como el día 0. Los folículos 1 no presentaron cambio en el número promedio al acercarse el día cero. Los folículos categoría 2 y 3 tienen variaciones aumentando el número de F2 entre los días -27 a -14, coincidiendo esto con un descenso en el número de F3. Sin embargo estos cambios en el número de F2 y F3 no fueron significativos ( $p > 0.05$ ).

CUADRO 1. PROMEDIO MENSUAL DE FOLICULOS F1, F2, F3 EN NOVILLONAS CEBU Y CEBU-HOLSTEIN COMPARANDO TODAS LAS HEMBRAS DEL ESTUDIO, CICLANDO, ANESTRICAS O EN TRANSICION (C/A/T) CON SOLO LAS HEMBRAS CICLANDO.

	MES	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO
F1	C/A/T	14.95 a	17.78 b	17.61 b	16.77 b	15.94 ab
	CICLANDO	15.32 a	17.61 b	16.73 ab	15.63 ab	13.2 ab
F2	C/A/T	1.34	1.07	1.20	1.01	0.84
	CICLANDO	1.47 a	0.97 b	1.18 ab	0.89 b	0.6 ab
F3	C/A/T	0.23	0.18	0.29	0.30	0.15
	CICLANDO	0.11	0.22	0.24	0.18	0

Para un determinado renglón, literales distintas entre meses son diferentes significativamente ( $p < 0.05$ ).



Gráfica 1. Número promedio y error estándar de folículos F1, F2 y F3 de los animales en anestro en los días previos al inicio del primer ciclo estral, divididos en periodos de siete días.

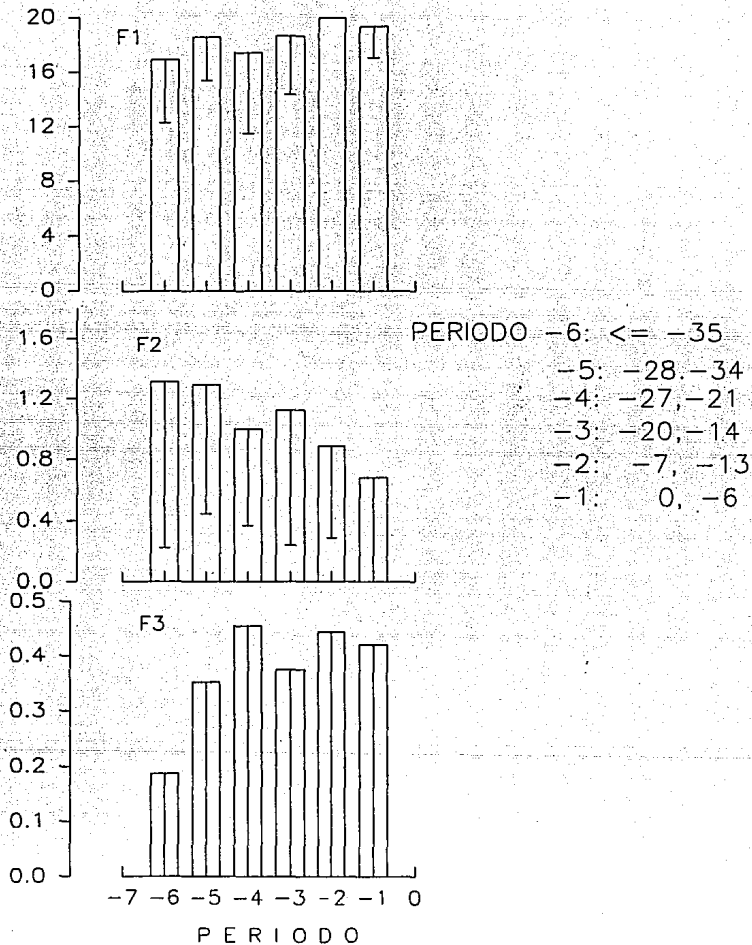
Los periodos de transición registrados duraron  $31.4 \pm 18.9$  días, siendo el más largo de 69 días y el más corto con duración de 12 días. Los animales en transición, al igual que los anéstricos, no presentaron cambios en el número promedio de folículos 1, 2 y 3 (gráfica 2) entre los periodos de 7 días anteriores al inicio de la ciclicidad ( $p > 0.05$ ). A pesar de que no se demostró diferencia existió en los F2 una tendencia a disminuir el número promedio conforme se aproxima el día del inicio del primer ciclo estral, y en los F3 a aumentar gradualmente.

En la gráfica 3 se muestran los datos y la línea de mejor ajuste para el número acumulado de folículos 1, 2 y 3 en las quince observaciones previas al inicio del primer ciclo estral (día 0) de animales en anestro. Se puede apreciar que en los F1 y F3 el ritmo de acumulación de los folículos es constante, acumulandose 4.46 F1 y 0.066 F3 por cada día que el animal se aproxime al día 0 (inicio del primer ciclo). En contraste en los F2 se acumulan 0.46 foli'culos por día, pero el grado de incrementó aumenta al aproximarse el animal a ciclar (0.0029 folículos por día<sup>2</sup>).

La gráfica 4 muestra los datos y la línea de mejor ajuste para el número acumulado de folículos 1, 2 y 3 en las 15 observaciones previas al inicio del primer ciclo estral de animales en transición. Las tres categorías de folículos fueron acumulando folículos al pasar los días, el índice de acumulación de los F1 y F3 se aceleró (efecto cuadrático) conforme el animal se aproximaba al día 0, esto no sucedió con los F2.

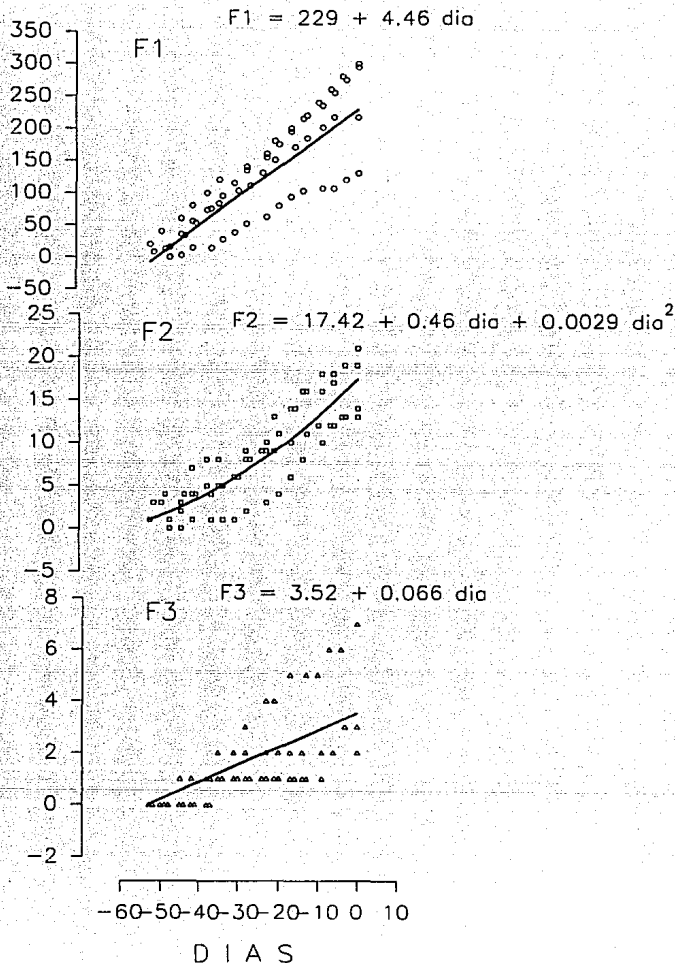


NÚMERO PROMEDIO DE FOLÍCULOS



Gráfica 2. Número promedio y error estándar de folículos F1, F2 y F3 de los animales en transición en los días previos al inicio del primer ciclo estral, divididos en periodos de siete días.

NUMERO ACUMULADO DE FOLICULOS

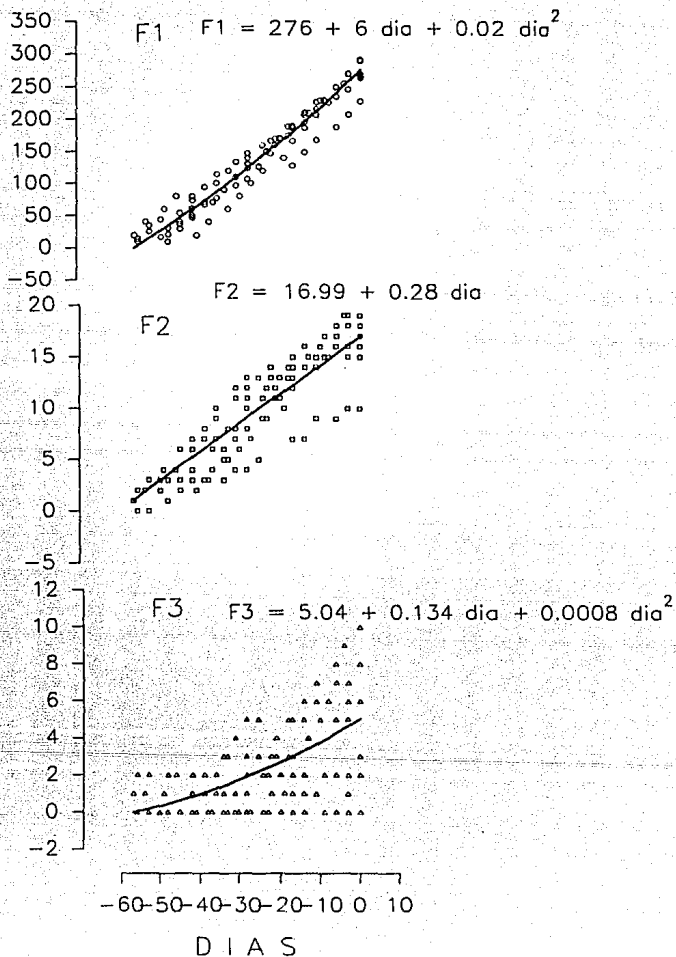


Gráfica 3. Línea de mejor ajuste y número acumulado de folículos F1, F2 y F3 de las quince observaciones previas al inicio del primer ciclo estral (día 0) de los animales en anestro.

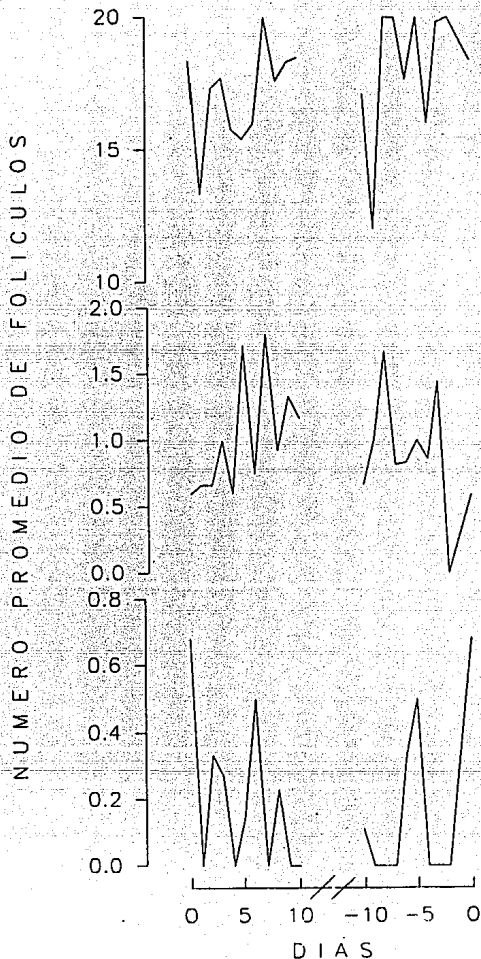
El grado de acumulación de F1 de las 15 observaciones previas al inicio del primer ciclo estral fue significativamente menor en los animales en anestro que en los animales en transición, siendo esta acumulación de 4.46 vs. 6 F1 por día ( $p < 0.025$ ). Los F2 se acumularon en mayor grado en los animales anéstricos 0.46 F2 por día contra 0.28 F2 por día en los animales en transición ( $p < 0.05$ ), además de que el índice de acumulación aumentó gradualmente en los animales anéstricos (0.0029 por día<sup>2</sup>). Los animales en transición mostraron una mayor acumulación de F3 que los animales en anestro (0.134 vs. 0.06  $p < 0.1$ ), además de que se incrementó el índice de acumulación de estos folículos al acercarse al día 0 en los animales en transición, pero estas diferencias no fueron significativas ( $p > 0.1$ ).

En el ganado Cebú ciclando no hubo diferencia en el número promedio de folículos en cuanto a F1 y F2 ( $p > 0.05$ ) en los 10 días anteriores y posteriores al estro (día 0). En F3 hubo diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ), entre los días 0 y 6 y los demás días del ciclo, indicando la presencia de oleadas foliculares que hacen pico en estos días. En la gráfica 5 se aprecia además que en los folículos 2 hay aumento en número entre los días 5 y 8 y los días -8 y -4. La duración del ciclo estral en las novillonas Cebú fue de  $21 \pm 2.65$  días, con valores extremos de 18 y 30 para el ciclo más corto y más largo respectivamente. Cabe señalar que este ciclo de 30 días fue el primer ciclo después de un periodo de anestro.

NUMERO ACUMULADO DE FOLICULOS



Gráfica 4. Línea de mejor ajuste y número acumulado de folículos F1, F2 y F3 de las quince observaciones previas al inicio del primer ciclo estral (día 0) de los animales en transición.



Grafica 5. Número promedio de folículos 1, 2 y 3 en novillonas Cebú durante los 10 días posteriores y anteriores al día del celo (día 0) en la raza Cebú.

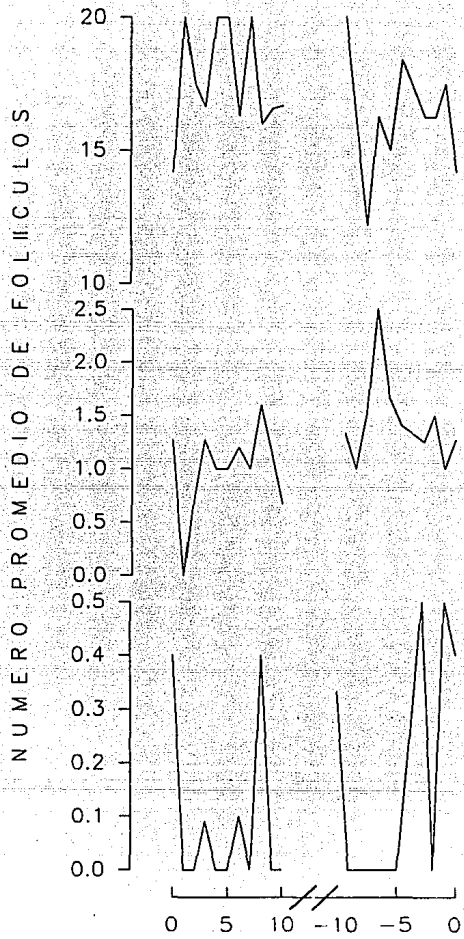
La duración promedio del ciclo estral en ganado Holstein-Cebú fue de  $21.06 \pm .26$  con valores extremos de 19 y 24 días. No existió diferencia en la duración del ciclo entre los dos tipos de ganado. La gráfica 6 muestra el número promedio de folículos 1, 2 y 3 para el ganado Holstein-Cebú y nuevamente se observa el patrón de dos ondas foliculares en lo referente a los F1 y F2 entre los días 3 y 10 y -8 a -4. No existieron diferencias significativas para los F1 y F2 entre los días del ciclo. Sin embargo, los F3 son mayores en número en los días 7 y 8, y en los días -3, -1 y 0 ( $p < 0.001$ ), indicando la presencia de oleadas. Estos folículos F3 se presentan después de las oleadas en F2 y F1, pudiendo tratarse de folículos que surgieron de entre los F2 y se hicieron dominantes.

En el cuadro 2 se muestran los promedios para el número de F1, F2 y F3 según el periodo reproductivo en el que se encontraban. Los animales en transición tuvieron mayor cantidad de F3 que los animales ciclando ( $0.42$  vs  $0.19$   $p < 0.05$ ), los animales anéstricos fueron intermedios entre las otras dos categorías. Los resultados en F2 mostraron diferencias entre los periodos anéstricos y transición, siendo los animales anéstricos los que mayor número de F2 tenían en sus ovarios ( $p < 0.06$ ). No hubo diferencias en la cantidad de F1 ( $p > 0.10$ ).

El efecto de los folículos F2 sobre los F1 y de los F3 sobre los F2 para los animales en anestro y transición responden a los modelos de regresión;

$$F1 = 17.5 + 0.04 \text{ día} - 0.7 F2 + 2.53 \text{ transición. } R^2=0.43$$

$$F2 = 5.42 - 0.84 F3 - 4.01 \text{ transición. } R^2=0.21$$



Grafica 6. Número promedio de folículos 1, 2 y 3 en novillonas Holstein-Cebú durante los 10 días posteriores y anteriores al día del celo (día 0) en la raza Holstein-Cebú.

los F1 aumentan en 0.04 por día y se ven disminuidos por la presencia de F2 en 0.7 F1 por cada F2. Los animales en transición tienen más F1 que los animales anéstricos. Los F2 no se ven afectados por el día, pero se ven disminuidos por los F3, relacionandose en -0.84 F2 por cada F3 presente en el individuo. Los animales en transición tienen menor número de F2 que los animales anéstricos.

CUADRO 2. NUMERO PROMEDIO DE FOLICULOS 1, 2 Y 3 DEPENDIENDO DEL ESTADO FISIOLÓGICO EN EL QUE EL ANIMAL SE ENCONTRABA (ANESTRO, TRANSICION O CICLANDO).

	ANESTRO	TRANSICION	CICLANDO
F1	16.7±5.4	17.64±4.88	16.39±5.66
F2	1.26±1.08 c	0.88±1.08 d	1.12±0.98 cd
F3	0.23±0.5 ab	0.42±0.53 a	0.19±0.42 b

a y b indican diferencias significativas entre reglones al  $p < 0.05$   
c y d indican diferencias significativas entre reglones al  $p < 0.06$

En los animales ciclando no se observó efecto de ninguna variable sobre el número de F1. Los F2 se ajustan al modelo de regresión;

$$F2 = 1.79 - 0.0007 \text{ día}^2 - 0.75 F3$$

existe una disminución en el número de folículos conforme avanzan los días acercandose al día del estro, y son tambien disminuidos por la presencia de F3

El número promedio de F1, F2 y F3 en los animales con o sin



CL funcional (progesterona > 1ng/ml) se muestra en el cuadro 3. Hubo diferencias en el número de F3 ( $p < 0.05$ ), las otras categorías foliculares no mostraron diferencias ( $p > 0.10$ ).

CUADRO 3. NUMERO PROMEDIO DE FOLICULOS 1, 2 Y 3 DEPENDIENDO DE LA PRESENCIA O AUSENCIA DE UN CUERPO LUTEO FUNCIONAL (PROGESTERONA > 1 ng.)

	F1	F2	F3
CON CL	17.08±5.29	1.47±0.85	0.17±0.4 a
SIN CL	16.73±5.41	1.14±1.11	0.27±0.5 b

Literales de columna diferente indican diferencia significativa  $p < 0.05$ .

#### DISCUSION

Los resultados en la cantidad de folículos de los animales ciclando y el conjunto de todos los animales por meses mostrados en el cuadro 1, nos indica que hubo diferencia significativa en la cantidad de F1 siendo el mes de marzo el que menor número de folículos tenía. Es interesante que el número de F1 fué en aumento al pasar los meses. Los F2 por el contrario, fueron decreciendo en número al avanzar los meses, y el mes de marzo tuvo significativamente más folículos que el de abril y junio ( $p < 0.05$ ). No hubo cambios en los F3.

Estos cambios en el número de folículos en las categorías 1 y 2 puede explicarse como el resultado de una mejor actividad ovárica en los meses mas avanzados del año, haciendo que aumente el número de folículos F1 seleccionados disponibles por el

organismo para ser reclutados en cada oleada folicular. El número de F2 equivale al número de folículos capaces de ser reclutados para seguir su desarrollo, se puede ver que su número va en disminución mes con mes, probablemente debido a que comienza a aparecer folículos dominantes, quienes inhiben el desarrollo de folículos F2. Entre los folículos reclutados uno será seleccionado y se hará dominante (F3). No hubo cambio en el número de F3 a lo largo del experimento, pero el decremento de F2 durante los meses del experimento nos indican que los F3 que se desarrollaron en meses más avanzados eran fisiológicamente más activos que los que se dieron en los primeros meses del experimento, probablemente porque muchos de ellos se desarrollaron en animales ciclando. En efecto, en un estudio hecho en ganado Holstein en anestro posparto Lucy et al. (1990) observaron un menor número de folículos medianos (6 a 9 mm.) cuando colocaron implantes de progesterona a las vacas y lo atribuyeron al desarrollo de un folículo dominante. Este folículo pudo haber tenido su capacidad endócrina aumentada al estar en un medio endócrino donde dominaba la progesterona (Johnson et al. 1991). Esto concuerda con los conceptos de selección del folículo ovulatorio expuesto anteriormente por Fortune et al. (1991).

El número promedio de folículos 1, 2 y 3 en periodos de 7 días anteriores al inicio del primer ciclo estral en animales anéstricos y animales en transición muestra que los F1 no sufren cambios en su número conforme se aproxima al día del inicio de la ciclicidad. En F2 y F3 no existieron diferencias significativas, pero el aumento en el número de F3 es correspondido con un

descenso en el número de F2 en los dos tipos de animales, indicando que los F3 son dominantes e inhiben el reclutamiento de nuevos folículos dentro de la categoría de F2. La gran variación en el número de folículos, que ocasionó la falta de significancia en este análisis, puede deberse a la presencia de oleadas foliculares en los ovarios, que hacen que en un periodo corto de días haya gran variación en el número de folículos 2 y 3. Varios autores han encontrado desarrollo folicular en oleadas en vaquillas prepuberes (Roche y Boland 1991), animales posparto productores de leche (Rajamahendran y Taylor 1990, Savio et. al. 1990) y de carne (Murphy et al 1990, Walton et al 1991). Sin embargo, el efecto dominante de los F3 (e inhibitorio sobre los F2) se confirma al realizar el análisis de regresión de F2 contra día y F3, en el que existió una reducción significativa de 0.84 F2 por cada F3 presente en los ovarios.

El efecto cuadrático de días sobre el índice de acumulación de folículos en los animales en anestro durante los días previos al inicio del primer ciclo estral indica que conforme el animal se aproxima hacia el día en que comenzará a ciclar hay un aumento en la cantidad de folículos F2; lo que no ocurre en el caso de los F3. Esto puede ser debido a que en los animales anéstricos el folículo dominante que se desarrolla es un folículo que no alcanza los 12mm. de diámetro y queda incluido dentro de los F2. En los animales en transición se dió un aumento en el índice de acumulación de los folículos cercano al primer ciclo estral, principalmente en F1 y F3. A diferencia de los animales en anestro, en los animales que tienen una fase de transición, el

foliculo que se esté desarrollando como dominante es un foliculo de mayor tamaño y probablemente con mejor funcionalidad endócrina, reflejandose ésto en el índice de acumulación de F3 más acelerado y en la menor acumulación de F2 en novillonas en transición que en en novillonas en anestro. Estas diferencias entre animales anéstricos y en transición indican que existe variación en la foliculogénesis de los animales según su estado reproductivo (anestro o transición).

En el presente trabajo se observó que en los animales en transición no hubo un aumento en la cantidad de folículos de F2 y F3 al acercarse la ciclicidad. Estos resultados concuerdan con lo indicado por Lucy *et al.* (1991a), donde en vacas posparto implantadas con progesterona, con el fin de eliminar el efecto del hipotálamo sobre el desarrollo folicular, el número de folículos de tamaño mediano (6-9 mm.) no cambió durante la duración del tratamiento. De la misma manera, concuerdan con lo encontrado en estados fisiológicos similares al anestro estacional que se está evaluando, en efecto Spicer *et. al.* (1986) encuentran un aumento en el número de folículos mayores a 8 mm. en el posparto de ganado de carne.

Las diferencias en el grado de acumulación de las distintas clases de folículos para los animales anéstricos y en transición, indican que se dan cambios en el desarrollo folicular, y que algunos animales pasan por un estado transicional entre el anestro y los ciclos estrales donde aumenta la actividad ovárica para desencadenar el desarrollo de un folículo que logre ovularse y formar un cuerpo lúteo.

Los animales ciclando de ambas razas exhibieron un patrón

folicular con una primera oleada, dando origen a un folículo dominante alrededor del día 7-8 del ciclo, y otra oleada que da origen al folículo dominante que será ovulado. Estos resultados concuerdan con un patrón de dos oleadas foliculares durante el ciclo estral ya investigado por Pierson y Ginther 1984, Pierson y Ginther 1987 y Sirois y Fortune 1988. Sin embargo, sería conveniente hacer un experimento para seguir individualmente a los folículos con el fin de determinar si existen animales con otro patrón de crecimiento folicular distinto al encontrado en este trabajo, ya que el las características de las oleadas foliculares pueden ser malinterpretadas al promediar el número de folículos en cada categoría.

Las diferencias en el número de folículos (F1, F2 y F3) entre los tres periodos (anestro, transición y ciclos estrales) muestran que los animales en transición son los que mayor cantidad de F1 y F3 tenían. Estos resultados nos indican que los animales en anestro tienen desarrollo de F2, pero estos folículos no logran continuar su desarrollo hasta F3, por lo que no hay folículos que se hagan dominantes sobre los demás, dando como consecuencia que folículos del tipo F2 crezcan en mayor número probablemente debido a deficiencia en el aporte de gonadotropinas o la falta de un folículo dominante que regule su crecimiento. En efecto, Peters y Lamming (1984), encontraron que los niveles de gonadotropinas circulantes se incrementan en el posparto, así como también este mismo esquema se presenta en especies estacionales como son los ovinos (Foster y Ryan 1981 y Sutama et al 1988) y equinos (Ginther 1979 y Silvia et.al. 1987), pudiendo

presentarse una situación similar en los animales anéstricos como en el caso del presente estudio. Sin embargo no podemos descartar la posibilidad de que se estén presentando oleadas foliculares y el folículo que mayor tamaño probablemente no crezca más y por ende no califica para nuestro criterio de folículos F3. Posiblemente sea necesario en futuros experimentos definir con mayor precisión las categorías de folículos.

Una vez que los animales empiezan a tener actividad ovárica (transición) hay folículos que alcanzan a hacerse dominantes sobre los demás inhibiendo su desarrollo, razón por la cual los animales en transición son los que menor número de F2 tienen. Una vez que el animal logra ciclar se dan oleadas foliculares con desarrollo de un conjunto de F2 y de este conjunto surgirá un F3, este folículo inhibirá el desarrollo de otros folículos y no habrá muchos folículos que alcancen este tamaño durante los ciclos estrales, por ende se verán pocos folículos del tipo F3.

La estructura jerárquica de los folículos donde un folículo que se logra hacer dominante suprime el reclutamiento de nuevos folículos, fue demostrado en el análisis de regresión, los F1 se vieron disminuidos por la presencia de F2, y los F3 provocaron una disminución en los F2 en los animales anéstricos y en transición. En los animales ciclando los F2 disminuyen en 0.75 por cada F3 y este efecto se ve incrementado por el día cuando se acerca al momento del estro. Esto concuerda con la teoría de selección de folículos expuesta anteriormente (Driancourt, 1991; Fortune *et. al.*, 1991).

La presencia de un CL no influyó sobre los folículos F1 y F2, sin embargo en F3 si hubo diferencias. Estas diferencias

pueden deberse a que los F3 se presentan en el periodo de proestro y estro cuando hay bajos niveles de progesterona. También puede deberse a que los folículos que se desarrollan en los animales que llegan a tener niveles de progesterona mayores o iguales a 1 ng/ml son folículos que ejercen dominancia sobre los demás inhibiendo su desarrollo. Otra explicación para el mayor número de F2 en relación a F3 es que los F3 no se hayan podido observar sea debido a que el folículo ovulatorio crece más rápido y persiste menos en el ovario que los folículos que se atresiarán (Murphy *et al.* 1990).

Se concluye que los animales Cebú no ciclando tienen un incremento en la actividad ovárica en los días previos al inicio de la ciclicidad, y esta actividad es más manifiesta en los animales en transición que en animales anéستicos.

Los folículos de tipo F2 y F3 se desarrollan inhibiendo el crecimiento de folículos de menor tamaño, sugiriendo que esta inhibición sea la causa de la presencia de oleadas foliculares durante el ciclo estral.

# EFICIENCIA DE LA PALPACION RECTAL EN LA DETECCION DEL CUERPO LUTEO FUNCIONAL, Y FOLICULOS OVARICOS EN NOVILLONAS CEBU Y HOLSTEIN-CEBU. COMPARACION CON ULTRASONOGRAFIA Y RADIOINMUNOANALISIS

## Introducción

La palpación rectal es una de las técnicas reproductivas más utilizada dentro del manejo reproductivo de hatos bovinos lecheros y de producción de carne. Representa el único método práctico para el diagnóstico de los órganos genitales de vacas y terneras en edad de reproducción (Zemjanis, 1975).

Sin embargo, a pesar de la importancia que tiene esta técnica, en la práctica se ha cuestionado su eficiencia para el seguimiento de la función ovárica. Numerosos autores han revisado la precisión de esta técnica, encontrando valores tan distintos como el 95% de precisión en la detección de cuerpos lúteos (CL). (Plunkett et al 1984), contrastando con y el 65% obtenido por Silva et al. (1992), siendo los valores más frecuentemente encontrados alrededor del 85% (Archbald et al, 1992; Watson y Munro, 1970).

Esta técnica puede ser menos precisa cuando se trata de ganado Cebú debido a características anatómicas propias, ya que los ovarios tienden a ser más pequeños en comparación con los de ganado de tipo europeo (Aguilar et al, 1983) y el cuerpo lúteo es de menor tamaño y protuye menos de la superficie del ovario (Plasse et al, 1970). En trabajos realizados en ganado Cebú se ha encontrado un 77% de precisión en la palpación del CL (Vaca et



al, 1983; Pathiraja et al, 1986). Además, algunos autores han informado sobre las diferencias en la precisión en la palpación de CL en distintas épocas del año, por lo que han sugerido que el tamaño o desarrollo del CL puede verse afectado por factores climatológicos (Voh Jr. et al, 1987).

A pesar de la extensa investigación hecha acerca de la sensibilidad y la precisión en la palpación del cuerpo lúteo, la información que se ha publicado es de poca utilidad, ya que tanto la sensibilidad (probabilidad de detectar un cuerpo lúteo) como la precisión (probabilidad de que una estructura detectada como cuerpo lúteo realmente lo sea) dependen de la proporción de animales estudiados que tengan un cuerpo lúteo en el momento de ser palpados (Galen, 1979; Gerstmann y Cappucci, 1986), por lo que la misma técnica puede resultar en valores de eficiencia o precisión diferentes dependiendo de la proporción de animales que se encuentren ciclando en el hato donde se haga la prueba. De esta manera, es imposible realizar comparaciones entre razas o épocas del año si no se toma en cuenta el grado de ciclicidad de los hatos evaluados.

Por otra parte, existe poca información sobre la precisión en la identificación de los folículos por vía rectal. Este punto toma mucha importancia en la actualidad debido al uso cada vez más diseminado de la transferencia de embriones y los tratamientos de superovulación que ésta conlleva. Por ejemplo, se ha demostrado que la existencia de un folículo dominante al inicio de un tratamiento superovulatorio puede disminuir significativamente la cantidad de folículos que responden a este

tratamiento, (Driancourt *et al*, 1991; Pierson y Ginther, 1988).

Para poder evaluar la técnica de palpación rectal, tanto para la palpación de cuerpos lúteos como de folículos, se requiere contar con un método de diagnóstico muy preciso que pueda servir de referencia. El análisis de la concentración sérica de progesterona por medio del radioinmunoensayo (RIA) ha demostrado ser un buen indicador de la presencia o ausencia de un cuerpo lúteo funcional (Kastelic *et al*, 1990; Thatcher y Thimonier, 1980) y se ha utilizado frecuentemente en los estudios de evaluación de palpación.

Sin embargo, es posible que en un ovario exista una estructura lútea desde el punto de vista morfológico, pero que no secrete progesterona, debido a ser una estructura relativamente joven o que ya haya iniciado la luteólisis funcional. En estos casos, la falta de coincidencia entre la palpación y los niveles de progesterona no se debe a error del palpador, si no a una falta de correspondencia real entre la morfología y la función del ovario. Por esta razón se debe diferenciar entre este tipo de error y el que se presenta cuando el palpador cree sentir una estructura lútea cuando en realidad no existe.

Recientemente, la ultrasonografía ha permitido la visualización de los órganos reproductivos en forma no invasiva y secuencial, permitiendo el estudio del CL desde etapas tempranas de su formación hasta incluso el momento de la siguiente ovulación (Pierson y Ginther, 1988). Los mismos autores en un trabajo previo (1987) encontraron que el ultrasonido es 100% certero en el diagnóstico del CL en los días 12 y 14 del ciclo. En el momento de su completo desarrollo el CL es una estructura

uniforme circunscrita con ecogeneidad diferente a la del estroma ovárico circundante, pudiendo llegar a tener un área central cavitaria (Sprecher et al., 1989).

Con respecto a la identificación de folículos, el ultrasonido es la técnica más certera, tanto para su cuantificación como para su medición al permitir ver folículos antrales tan pequeños como 2 mm. de diámetro, incluso si se encuentran inmersos en el estroma ovárico (Pierson y Ginther, 1987). Pierson y Ginther (1987) evaluaron el número de folículos en distintos rangos de tamaño, encontrando coeficientes de correlaciones significativos entre el número de folículos cuantificados por ultrasonido y el número de folículos presentes en el ovario al momento de incidirlos.

#### **Objetivos**

1.- Determinar la sensibilidad y la precisión en la palpación del CL, y calcular el valor predictivo de ésta técnica en hatos con diferente proporción de animales ciclando.

a) Determinar el grado de coincidencia entre la prueba de RIA y la ultrasonografía en la evaluación de la presencia del CL funcional.

b) Determinar la eficiencia del diagnóstico por palpación rectal cuando existe presencia fisiológica y/o anatómica de un CL.

c) Comparar el valor predictivo del diagnóstico de palpación de un CL en ganado Cebú y Holstein-Cebú.

2.- Determinar la eficiencia de la palpación rectal en el diagnóstico de folículos mayores o iguales a 6mm de diámetro.

## MATERIAL Y METODOS

El estudio fue realizado durante los meses de marzo a junio con 16 novillonas Cebú Gyr, de las cuales 10 se encontraban en anestro al inicio el experimento (marzo) y 3 continuaban en anestro al término del estudio (junio), y con 7 novillonas Holstein-Cebú (5/8) ciclando. Los animales estaban localizados en el Centro de Investigación, Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical (CIEEGT), perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, y en el predio del Centro de Cría y desarrollo Ganadero, finca "La Soledad", ubicados en Martínez de la Torre, Veracruz, localizado a 151 msnm, a 20° 4' de latitud Norte y 97° 3' de longitud Oeste, con clima Af (w) (García, 1981) y precipitación promedio anual de 1980.7 ± 431.5 mm., y temperatura media anual de 23.8 °C (Boletín informativo CIEEGT 1985/1986).

Los animales fueron examinados por palpación rectal dos veces por semana sin tomar en cuenta la historia previa del animal, anotándose la presencia o ausencia de cuerpo lúteo (CL) y la presencia o ausencia de folículos palpables en cada ovario. Posterior a cada palpación se hizo un estudio ultrasonográfico de los ovarios, utilizando un ultrasonido Tokio Keiko LS1000, con transductor de arreglo lineal de 7.5 Mhz. Se extrajo el material fecal, posteriormente se introdujo por vía rectal el transductor bañado en gel de conducción (Ultra/phonic, Pharmaceutical innovations inc. Newark, New Jersey 07104) envuelto en un guante de palpación. El transductor se movió lateralmente siguiendo el borde dorsal del útero hasta localizar al ovario y examinarlo sin manipular directamente a éste o al aparato reproductivo (Pierson

y Ginther, 1988).

En su caso se registró la presencia ultrasonográfica del CL y las características de éste, así como la presencia de folículos mayores o iguales a 6 mm de diámetro. Se midió el diámetro de los folículos tomando como su límite el borde interior de la pared ecogénica del folículo.

Además de la palpación y el estudio ultrasonográfico, se tomó en cada ocasión una muestra de sangre por punción de la vena o arteria coccigea, utilizando tubos heparinizados al vacío para determinar la concentración de progesterona plasmática. La sangre se centrifugó a 5000 rpm durante 10 min para separar el plasma, el cual fue colocado en tubos de vidrio en congelación a -20 °C hasta su procesamiento por la técnica de radioinmunoanálisis de fase sólida (Srikandakamur et al. 1986). Se consideró que existía un cuerpo lúteo funcional si la concentración de progesterona en una muestra fue mayor a 1 ng/ml. Los coeficientes de variación intraensayo fueron 5.93 y 5.91%, para los controles alto y bajo respectivamente, y el coeficiente de variación interensayo fue de 12.5 para el control alto y 11%, para el control bajo. La sensibilidad mínima del ensayo fue de 0.094 ng/ml.

#### **Análisis Estadístico**

Para medir la concordancia entre la presencia física (detectada por ultrasonido) y funcional (progesterona arriba de 1 ng/ml) del cuerpo lúteo se aplicó la prueba de "Kappa de Cohen" (Leach, 1982). La eficiencia del diagnóstico de palpación rectal para detectar CL funcional se estableció con respecto a la presencia de CL visto en el ultrasonido aunado a una

concentración sérica de progesterona mayor a 1ng/ml. Se consideraron para este propósito, como verdadero positivo (VP) a todo diagnóstico de cuerpo lúteo por palpación y que fue confirmado tanto por ultrasonido y radioinmunoanálisis, como cuando se detectaba cuerpo lúteo por palpación pero no se confirmaba por radioinmunoanálisis ni ultrasonido se consideró como falso positivo (FP). En caso de que por palpación se detectara cuerpo lúteo y este no fuera comprobado por ultrasonografía se consideró como verdadero negativo (VN), y por último cuando se diagnosticó ausencia de cuerpo lúteo y al realizar la ultrasonografía se encontrara un CL en alguno de los ovarios se dio como falso negativo (FN). La capacidad para palpar folículos mayores o iguales a 6 mm. de diámetro se estableció con respecto a la eficiencia del ultrasonido. Se evaluaron la sensibilidad, la especificidad, la precisión del diagnóstico positivo y negativo y la eficiencia global del mismo, utilizando para su cálculo las fórmulas siguientes (Galen, 1979).

Sensibilidad del diagnóstico: porcentaje de los casos positivos que fueron diagnosticados como tales.

$$\frac{\text{verdaderos positivos (VP)}}{\text{VP + falsos negativos (FN)}} \times 100$$

Especificidad del diagnóstico: Porcentaje de los casos negativos que se diagnosticaron como negativos.

$$\frac{\text{VN}}{\text{VN + FP}} \times 100$$

Precisión del diagnóstico positivo (PDP): Porcentaje de los diagnósticos positivos que realmente corresponden a casos

positivos.

$$\frac{VP}{VP + FP} \times 100$$

Precisión del diagnóstico negativo (PDN): Porcentaje de los diagnósticos negativos que realmente corresponden a casos negativos.

$$\frac{VN}{VN + FN} \times 100$$

Eficiencia global de la palpación (EGP): Porcentaje de diagnósticos correctamente hechos.

$$\frac{VP + VN}{VP + VN + FN + VN}$$

Además de lo anterior, se calculó el valor predictivo del diagnóstico positivo y negativo del cuerpo lúteo. Para poder hacer comparaciones en cuanto a la eficiencia del diagnóstico en la raza Cebú y en la Holstein-Cebú, se calculó el valor predictivo y los intervalos de confianza del diagnóstico, variando la incidencia hipotética de CL en la población, ya que el valor predictivo de un diagnóstico se puede modificar al cambiar la prevalencia del CL en la población (Gerstmann y Cappucci, 1986). Para calcular los valores predictivos se utilizó la siguiente fórmula, variando la incidencia desde 0 hasta 100%. Valor predictivo del diagnóstico positivo (VPDP).

$$\frac{\text{sensibilidad} \times \text{incidencia}}{(\text{sensibilidad} \times \text{incidencia}) + [(1 - \text{especificidad}) \times (1 - \text{incidencia})]}$$

Valor predictivo del diagnóstico negativo (VPDN).

especificidad X (1-incidencia)

$$\frac{\text{especificidad X (1-incidencia)}}{[\text{especificidad X (1-incidencia)}] + [(1-\text{sensibilidad}) \text{ X incidencia}]}$$

## RESULTADOS

La concordancia entre la presencia de CL detectada por medio del ultrasonido y la concentración de progesterona sérica cuantificada por RIA fue  $K=0.67$  cuando solo se consideraba la presencia o ausencia ultrasonográfica de un CL en cualquiera de los ovarios. Sin embargo, cuando se tomó en cuenta las características ultrasonográficas del CL y se consideró como cuerpo lúteo activo solamente a aquel CL con un diámetro mayor a 2 cm y ecogeneidad menor al del parénquima ovárico circundante, esta concordancia aumentó a  $K=0.83$ , siendo esta concordancia significativamente mayor a la que pudiera ocurrir al azar ( $p<0.05$ ).

En el cuadro 1 se muestra el total de casos en cada mes en las que el uso combinado de ultrasonido y progesterona determinó la presencia o ausencia de CL en ganado Cebú, así como los resultados de la palpación rectal de dichos casos. El cuadro 2 muestra la misma información para el ganado Holstein-Cebú. Puede apreciarse que la incidencia real de cuerpo lúteo en el ganado Cebú fue en aumento al pasar los meses, siendo la incidencia de cuerpo lúteo de apenas 27% en el mes de marzo y del 72% en el mes de junio. En contraste en el ganado Holstein-Cebú el porcentaje de animales con cuerpo lúteo por mes fue alrededor del 70%, no



existiendo variación en la proporción en los diferentes meses del estudio.

CUADRO 1. NUMERO DE OBSERVACIONES DE ANIMALES CEBU CON CUERPO LUTEO, SIN CUERPO LUTEO, INCIDENCIA DE CUERPO LUTEO, Y DIAGNOSTICOS VERDADEROS POSITIVOS Y NEGATIVOS Y DIAGNOSTICOS FALSOS POSTIVOS Y NEGATIVOS EN LOS MESES DE MARZO A JUNIO.

	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	TOTAL
TOTAL DE CL	39	22	15	8	84
TOTAL SIN CL	105	62	21	3	191
INCIDENCIA DE CL	27.08	26.19	41.66	72.72	30.54
VERDADERO POSIT	38	19	13	7	77
VERDADERO NEGAT	96	58	20	3	177
FALSO POSITIVO	9	4	1	0	14
FALSO NEGATIVO	1	3	2	1	7

CUADRO 2. NUMERO DE OBSERVACIONES DE ANIMALES HOLSTEIN-CEBU CON CUERPO LUTEO, SIN CUERPO LUTEO, INCIDENCIA DE CUERPO LUTEO, Y DIAGNOSTICOS VERDADEROS POSITIVOS Y NEGATIVOS Y DIAGNOSTICOS FALSOS POSTIVOS Y NEGATIVOS EN LOS MESES DE MARZO A MAYO.

	MARZO	ABRIL	MAYO	TOTAL
TOTAL DE CL	27	13	10	50
TOTAL SIN CL	9	6	4	19
INCIDENCIA DE CL	75	68.42	71.42	72.46
VERDADERO POSIT	24	13	8	45
VERDADERI NEGAT	8	5	4	17
FALSO POSITIVC	1	1	0	2
FALSO NEGATIVO	3	0	2	5

En el cuadro 3 se muestran los valores de sensibilidad, especificidad, precisión del diagnóstico positivo, precisión del diagnóstico negativo y eficiencia global de la palpación de cuerpo lúteo en ganado Cebú en los meses de marzo, abril y mayo. La sensibilidad indica que en promedio, la palpación rectal permitió detectar al 91.7% de los cuerpos lúteos que estaban presentes en los ovarios al ser palpadas las vacas. La especificidad indica que el 92.7% de los casos en los que no

había cuerpo lúteo en los ovarios fueron diagnosticados correctamente.

La precisión del diagnóstico positivo indica que en promedio, solo en el 84% de los casos en que se diagnosticó un cuerpo lúteo por palpación realmente existía un cuerpo lúteo funcional. En cambio, el 96% de los casos en los que se diagnosticó ausencia de cuerpo lúteo fueron correctos. La eficiencia global de la palpación fue del 92%.

CUADRO 3. RESULTADOS DE LA EVALUACION DEL DIAGNOSTICO POR PALPACION DE CL EN LOS MESES DE MARZO, ABRIL Y MAYO EN NOVILLONAS CEBU CONTRA LA DETECCION DEL MISMO POR ULTRASONIDO Y NIVELES SERICOS DE PROGESTERONA ARRIBA DE 1ng/ml.

	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	PRECISION DEL DX		EGP
			POSITIVO	NEGATIVO	
MARZO	97.43%	91.42%	80.8%	98.9%	93%
ABRIL	86.36%	93.54%	82.6%	95.0%	91%
MAYO	86.66%	95.23%	92.8%	90.9%	91%
TOTAL	91.66%	92.67%	84.6%	96.1%	92%

El cuadro 4 muestra los mismos resultados para las novillonas Holstein-Cebú, se puede apreciar que hubo variaciones en la sensibilidad y especificidad del diagnóstico, pero los totales son muy similares a los obtenidos para los animales Cebú. Sin embargo, la precisión del diagnóstico positivo fue mayor y la del diagnóstico negativo menor en novillonas Holstein-Cebú que en novillonas Cebú.

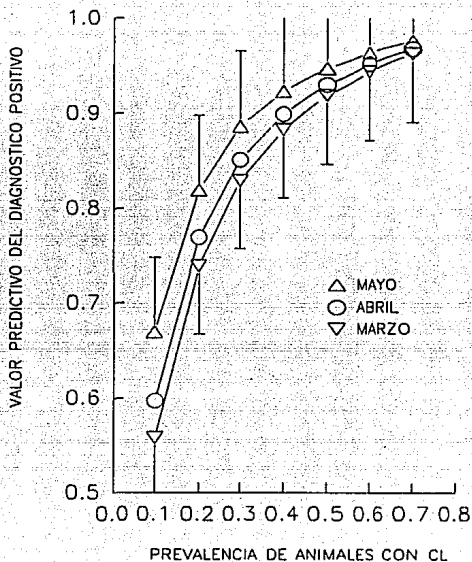
Cuando la palpación fue comparada unicamente contra la concentración sérica de progesterona tuvo una sensibilidad del 91.6%, valor muy similar al obtenido en la comparación de la

palpación contra ultrasonido y progesterona. La especificidad bajó al 81.4%, lo mismo se observó en la precisión del diagnóstico positivo, el cual bajo a 73.3%. La precisión del diagnóstico negativo y la eficiencia global de la palpación fueron de 94.6% y 85% respectivamente, siendo similar a lo obtenido en la comparación contra ultrasonido y progesterona.

CUADRO 4. RESULTADOS DE LA EVALUACION DEL DIAGNOSTICO POR PALPACION DE CL EN LOS MESES DE MARZO, ABRIL Y MAYO EN NOVILLONAS CEBU-HOLSTEIN CONTRA LA DETECCION DEL MISMO POR ULTRASONIDO Y NIVELES SERICOS DE PROGESTERONA ARRIBA DE 1ng/ml.

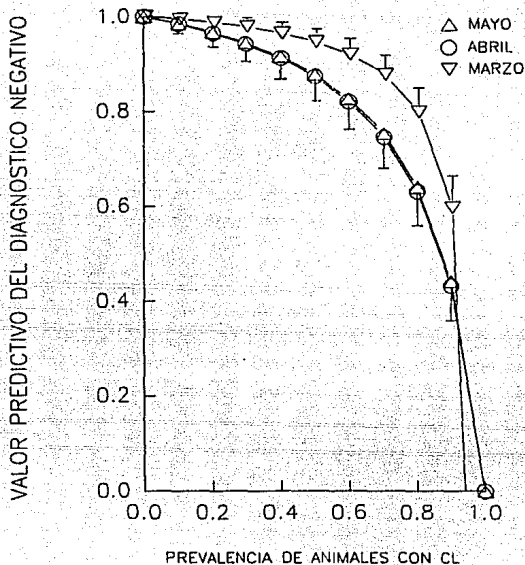
	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	PRECISION DEL DX		EGP
			POSITIVO	NEGATIVO	
MARZO	88.88%	88.88%	96.0%	72.7%	88%
ABRIL	100%	83.33%	92.8%	100%	94%
MAYO	80.00%	100%	100%	66.6%	85%
TOTAL	90.00%	89.47%	95.7%	77.27	89%

En la gráfica 1 se muestra el valor predictivo a diferentes niveles hipotéticos de incidencia de cuerpo lúteo en la población, para el diagnóstico positivo de la presencia de un cuerpo lúteo en animales Cebú, calculada a partir de los resultados obtenidos en los meses de marzo, abril y mayo. Se aprecia que mientras aumenta la proporción de animales con CL en la población el valor predictivo es también mayor, esto es que mejora la probabilidad de que un diagnóstico positivo de presencia de CL sea cierto. No se demostró diferencia en cuanto a la palpabilidad del cuerpo lúteo entre meses, cuando se ajusta a una determinada incidencia de cuerpos lúteos en la población ( $p > 0.05$ ).



GRAFICA 1. VALOR PREDICTIVO PARA EL DIAGNOSTICO POSITIVO DE CUERPO LUTEO A DIFERENTES NIVELES HIPOTETICOS DE INCIDENCIA, EN ANIMALES CEBU DURANTE LOS MESES DE MARZO, ABRIL Y MAYO.

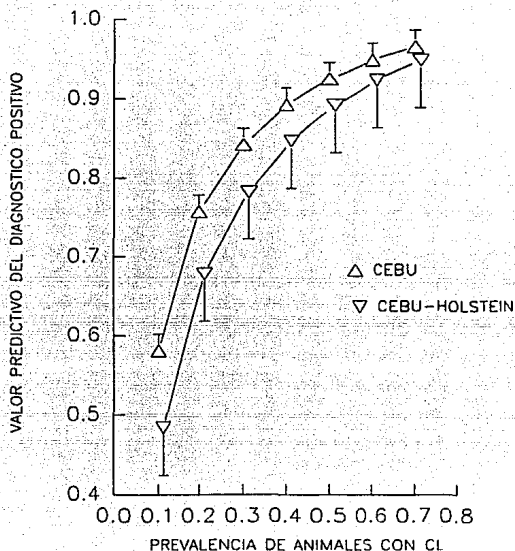
De la misma manera en la gráfica 2 se muestra el valor predictivo para el diagnóstico negativo a diferentes niveles hipotéticos de incidencia de cuerpo lúteo, calculada para los meses de marzo, abril y junio. El valor predictivo del diagnóstico negativo disminuye conforme aumenta la proporción de animales con cuerpo lúteo; es decir la probabilidad de que un diagnóstico negativo sea correcto va disminuyendo al aumentar la incidencia de cuerpos lúteos. No se encontró diferencia en el valor predictivo del



GRAFICA 2. VALOR PREDICTIVO PARA EL DIAGNOSTICO NEGATIVO DE CUERPO LÚTEO A DIFERENTES NIVELES HIPOTÉTICOS DE INCIDENCIA, EN ANIMALES CEBU DURANTE LOS MESES DE MARZO, ABRIL Y MAYO.

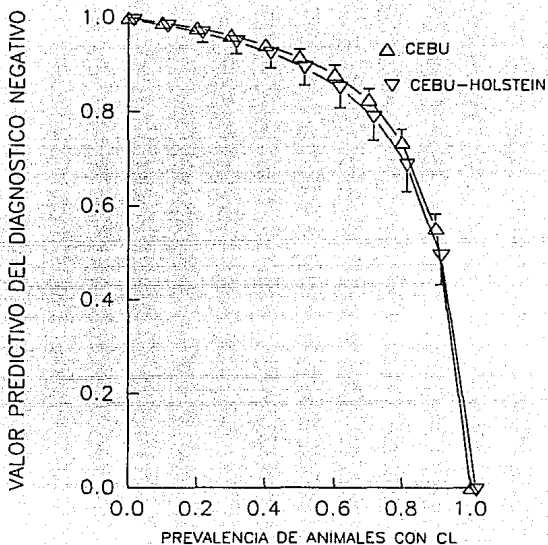
diagnóstico negativo entre meses. Estos resultados indican que las diferencias en la precisión del diagnóstico positivo observadas entre meses no se deben a que las características de los cuerpos lúteos sean distintas en diferentes meses, sino a una incidencia variable de cuerpos lúteos en los diferentes meses.

En la grafica 3 se muestra el valor predictivo para el diagnóstico de cuerpo lúteo de los animales Cebú y Holstein-Cebú a diferentes niveles hipotéticos de incidencia de cuerpo lúteo.



GRAFICA 3. VALOR PREDICTIVO PARA EL DIAGNOSTICO POSITIVO DE CUERPO LUTEO A DIFERENTES NIVELES HIPOTETICOS DE INCIDENCIA DE CUERPO LUTEO PARA LAS RAZAS CEBU Y HOLSTEIN-CEBU.

No existió diferencia en cuanto a la palpabilidad del cuerpo lúteo entre las razas cuando se ajusta a una determinada incidencia de animales con cuerpo lúteo ( $p > 0.05$ ), tampoco hubo diferencia en el valor predictivo del diagnóstico negativo entre razas (grafica 4), indicando que la diferencia en la precisión del diagnóstico de cuerpo lúteo observada entre razas no se debe a una mejor palpabilidad del cuerpo lúteo en los animales Holstein-Cebú sino a la mayor incidencia de cuerpo lúteo en estos animales.



GRAFICA 4. VALOR PREDICTIVO PARA EL DIAGNOSTICO NEGATIVO DE CUERPO LUTEO A DIFERENTES NIVELES HIPOTETICOS DE INCIDENCIA DE CUERPO LUTEO PARA LAS RAZAS CEBU Y HOLSTEIN-CEBU.

En el cuadro 5 se muestra el análisis del método de palpación rectal para folículos iguales o mayores a 6 mm. Se aprecia que la sensibilidad es muy baja (53%) en relación a la encontrada en la palpación de cuerpos lúteos, indicando que los folículos no son estructuras tan discernibles como el cuerpo lúteo, el cual es un tejido parenquimatoso, a diferencia del folículo que es vesicular. La sensibilidad obtenida no fue estadísticamente mejor de lo que se obtendría al azar ( $p > 0.05$ ).

La especificidad es a su vez más baja (82%) que la de los CL, sin embargo esta es mayor que la que se encontraría por azar ( $p > 0.05$ ), sin embargo, aunque la especificidad es buena la precisión del diagnóstico negativo es baja (64%) debido a que casi todos los ovarios tienen folículos, por lo que el diagnóstico negativo no es muy confiable. La eficiencia global del diagnóstico de folículos fue del 69%.

CUADRO 5. RESULTADOS DE LA EVALUACION DEL DIAGNOSTICO DE FOLICULOS POR PALPACION EN NOVILLONAS CEBU Y CEBU-HOLSTEIN CONTRA LA DETECCION DE LOS FOLICULOS POR MEDIO DEL ULTRASONIDO

	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	PRECISION DEL DX		EGP
			POSITIVO	NEGATIVO	
CEBU	53.42%	81.77%	73.12%	65.4%	68%
HO-CEBU	54.54%	88.23%	85.71%	60%	69%
TOTAL	53.61%	82.59%	75%	64.6%	69%

## DISCUSION

En este estudio el análisis de progesterona por RIA y la imagen de la ultrasonografía fueron tomadas como patrones para medir la eficiencia de la palpación, que fue usada como la prueba diagnóstica a evaluar.

Primeramente se evaluó la concordancia entre las dos pruebas patrones y se obtuvo una concordancia del 83.5 %. En cambio cuando las características del CL no son tomadas en cuenta la coincidencia entre las dos pruebas es de tan solo 67%, que aunque es mayor a la que por azar se obtendría, es baja, esto debido a varias causas. Existe evidencia que el CL puede distinguirse en el ovario hasta tres días después de la ovulación del ciclo siguiente (Piesrson y Ginther 1984), lo que indica que la presencia física de un CL continua varios días después de que



esta estructura ha dejado de ser funcional. Los niveles circulantes de progesterona decaen antes de que el CL disminuya su tamaño (Sprecher et al. 1989).

La diferencia en concordancia derivada del tomar en cuenta o no las características ultrasonográficas del cuerpo lúteo para calificarlo CL como funcional nos indican que la simple visualización del CL en el ultrasonograma no garantiza la presencia de CL funcional. Una de las posibles causas de la falta de concordancia puede ser nuevamente la caída abrupta de la progesterona sérica al final del diestro cuando anatómicamente aún existe un CL (McNatty et al. 1984). Otra causa puede ser la falla en el reconocimiento de la ecotextura de un CL en regresión ya que los cambios que se dan de un día a otro entre cuerpo hemorrágico, cuerpo lúteo y cuerpo albicans son mínimos (Sprecher et al. 1988). También se pueden presentar errores en la identificación de las muestras de sangre. El valor de concordancia obtenido en este trabajo está por debajo del 91% obtenido por Pierson y Ginther (1988) cuando compararon la ultrasonografía con el estudio postmortem de los ovarios en los días 12 y 14 del ciclo, pero es superior al encontrado por Sprecher (1989) en la comparación del ultrasonido y RIA en animales con niveles de progesterona inferiores a 5 ng/ml. Se puede indicar de acuerdo a lo encontrado anteriormente por Kastelic et al. (1990) el diagnóstico de un cuerpo lúteo maduro por medio del ultrasonido es un buen indicador de la capacidad endócrina del mismo medido por RIA.

En los resultados de la comparación de la palpación rectal

contra la presencia de un CL funcional detectado por medio de ultrasonido y niveles de progesterona mayores a 1 ng/ml, se obtuvo una sensibilidad del 91.6 para el ganado Cebú y del 90 para la craza Holstein-Cebú. Estos valores se encuentran por arriba de lo que está publicado para ganado europeo (Sprecher et al. 1989 y Watson y Munro 1970) y de lo encontrado para ganado Cebú (Pathiraja et al. 1986 y Silva et al. 1992), probablemente debido a la discriminación de que fueron objeto los CL cuyos niveles de progesterona fueron menores a 1ng/ml y a CL cuyos tamaños y ecogenicidades a la imagen del ultrasonido no correspondieran a juicio del clínico operador a la de un CL completamente maduro y funcional. Estos criterios, a diferencia de las conclusiones de Ott et al. (1977), sugieren que la palpación tiene suficiente validez para el diagnóstico de CL, por ejemplo en el caso de que se desee hacer una sincronización de estros con prostaglandinas.

Cuando se utilizó únicamente la medición de progesterona para comparar a la palpación rectal la precisión del diagnóstico positivo disminuyó. Esta reducción de cerca de un 15% en la precisión del diagnóstico positivo cuando solo se compara la palpación con la progesterona puede deberse a la presencia de CL existentes en los ovarios cuya función endócrina no está presente.

Las diferencias en los resultados que se tienen en la precisión del diagnóstico de CL en los trabajos revisados pueden ser debidos a las distintas poblaciones con que estos investigadores han trabajado. En efecto Gerstmann (1986), al evaluar la veracidad de las pruebas de diagnóstico, da un ejemplo

de como la incidencia de un evento en una población (CL en nuestro caso) afecta el resultado de precisión y eficiencia global de una prueba.

En la grafica 1 y 2, se muestra el valor predictivo para el diagnóstico positivo y negativo de presencia de CL cuando existen diferentes niveles de prevalencia de un CL en los meses de marzo, abril y mayo en ganado Cebú. Se puede apreciar que cuando se ajusta el valor predictivo para un mismo nivel de prevalencia del CL, no existen diferencias en cuanto a la palpabilidad del cuerpo lúteo ( $p > 0.05$ ), y que cuando incrementa la proporción de animales con cuerpo lúteo la probabilidad de un diagnóstico positivo aumenta y la de un diagnóstico negativo disminuye. Esto podría explicar las diferencias indicadas por Voh et al. (1977) con referencia a la palpabilidad del CL en diferentes épocas del año, ya que en ganado Cebú una buena proporción del hato deja de ciclar en los meses desfavorables del año (Plasse et al., 1968).

La diferencia en la palpabilidad del CL entre el ganado Cebú y Holstein-Cebú podría esperarse como una consecuencia lógica de las diferencias en cuanto al tamaño de los ovarios (Aguilar et al 1983) y del tamaño del CL (Plasse et al 1970). Sin embargo no se observaron diferencias en cuanto a la sensibilidad, especificidad ni precisión en la palpabilidad del cuerpo lúteo. Sin embargo, esta diferencia podría encontrarse si se compara un hato de ganado Cebú contra uno de ganado Holstein debido a diferencias en la proporción de animales ciclando. En la gráfica 3 se muestra el valor predictivo y la desviación estandar para el diagnóstico positivo de CL en distintos niveles de prevalencia de CL, y el

valor predictivo del diagnóstico negativo es mostrado en la gráfica 4. No se encontraron diferencias cuando se comparan los dos tipos de ganado en un mismo nivel de prevalencia. Sin embargo existen diferencias si se compara ganado Cebú con 10% contra ganado Holstein-Cebú con 30% o más de incidencia de CL o ganado Cebú con 30% contra Holstein-Cebú con 70% de CL, estos dos últimos números se obtendrían si se encuentra ciclando aproximadamente el 50% del hato Cebú y el 100% del hato cruzado con Holstein, lo que sería característico para estos dos tipos de animales antes de los cien días posparto. Un ejemplo de esto es el trabajo realizado por Hussein (1992), quien interpreta sus resultados como una mayor frecuencia de errores en la palpación de CL en el posparto temprano comparado con revisiones más tardías, cuando en realidad se deben a la menor incidencia de CL en las muestras del posparto temprano.

En cuanto a la palpación de folículos se tuvo una sensibilidad estadísticamente igual al 50% que se obtuviera por azar. En una prueba donde lo que interesaría es la sensibilidad, el diagnóstico de folículos mayores de 6 mm por palpación no brinda ninguna ventaja. Probablemente si se tomaran en cuenta únicamente folículos mayores de 9 mm que son los que ya ejercen dominancia sobre los demás y podrían afectar la respuesta a una sincronización o un tratamiento superovulatorio la eficiencia del diagnóstico por palpación aumentaría a valores significativos. Tomando en cuenta estos resultados, y aunado a que durante todo el ciclo estral se encuentran folículos en desarrollo en el ovario, se podría cuestionar la utilidad del diagnóstico de folículos desde tamaños tan pequeños como 6 mm.

## DISCUSION GENERAL

Fue evidente que la proporción de animales ciclando y que quedan gestantes aumenta hacia los meses más calurosos en el ganado Cebú, esto no sucedió en el ganado cruzado Holstein-Cebú ya que de ellos el 100% estaba ciclando al iniciar el experimento y así continuaron hasta que dejaron de ser observadas. Conforme avanzaron los meses hubo evidencia de una mejor coordinación de las oleadas foliculares en el ganado Cebú, y al parecer los folículos de 12 mm o mayores que se desarrollan en los meses más calurosos del año en este tipo de ganado, son folículos que ejercen mejor su dominancia que aquellos que surgen en meses más fríos. En efecto, Rao y Pandey (1983) y McNatty *et al.* (1983) trabajando con ovarios de ganado Holstein, encontraron evidencias de cambios estacionales en la endocrinología de los folículos.

Las causas de la estacionalidad reproductiva observada en este trabajo no fueron determinadas, sin embargo existe abundante evidencia de que los cambios estacionales en la reproducción pueden deberse a cambios en la disponibilidad de forraje. En efecto, Basurto (1992) observó que durante el verano la disponibilidad de forraje aumenta considerablemente en comparación con el resto del año, aunado a que durante las épocas en que el fotoperiodo incrementa aumenta también el consumo de alimento (Tucker *et al.* 1984).

La influencia de la nutrición sobre la reproducción ha sido ampliamente documentada. Short y Adams (1988) demostraron que la secreción de LH en respuesta a la infusión de GnRH es menor en animales que sufren restricción alimenticia. De igual manera, Padmanabhan *et al.* (1989), encontraron que los niveles de FSH son

extremadamente sensibles a los cambios en la alimentación. Estos cambios en la secreción de gonadotropinas explican los cambios en la foliculogénesis que se presentan cuando se modifican las condiciones nutricionales (Lucy et al. 1991a, 1991b). Sin embargo, Chicoteau (1990) encontró variaciones estacionales en la reproducción aun cuando mantuvo a los animales bajo condiciones nutricionales controladas.

Los desórdenes ováricos que se presentaron antes de reiniciar la ciclicidad, son similares a los que se presentan en el periodo puberal, indicando probablemente la desincronización entre los eventos endócrinos (capítulo III). Estos eventos pueden de alguna manera ser explicados por los hallazgos de otros autores; así Rao y Pandey (1983), trabajando con búfalos en la India, encontraron diferencias en la cantidad de estrógenos secretados por folículos desarrollados en diferentes estaciones del año. De igual manera, McNatty et al. (1983), trabajando con ganado europeo, encuentran un efecto estacional sobre el diámetro folicular y la cantidad de células de la granulosa, y sugieren que los folículos tienen mayor potencial para sintetizar andrógenos y estrógenos debido a estos cambios. Esto puede ser debido a que el folículo preovulatorio en su fase final de desarrollo es fuertemente dependiente de LH, ya que la inhibina producida por él mismo disminuye los niveles circulantes de FSH (Driancourt, 1991). Existen evidencias de que la LH se ve afectada por la estación del año, siendo mayor el pico preovulatorio de LH en la primavera que en el invierno (McNatty et al. 1983, Randel 1984, Day et al. 1986, Rao and Pandey 1983).

En forma similar, en periodos prepuberales la LH aumenta la frecuencia de secreción al acercarse la primera ovulación (Moran et al. 1989). Es posible que también haya un efecto estacional sobre la frecuencia de secreción de LH.

Las alteraciones en la actividad ovárica de los animales que pasan de anestro a transición pueden deberse a la falta de un periodo de presensibilización con progesterona durante el desarrollo folicular. Así, frecuentemente la primera ovulación después de un periodo de anestro es seguida por la formación de un cuerpo lúteo de corta duración (Bulman y Lamming 1978, Odde et al. 1980) y en condiciones experimentales induciendo la primera ovulación en animales anéstricos con GnRH (Troxel and Kesler 1984). Por último el desarrollo folicular en periodos de anestro da como resultado un folículo cuya capacidad para luteinizarse y formar un cuerpo lúteo funcional es limitada. Inskeep et al. (1988) señalan que para que un folículo desarrolle receptores para LH es necesaria la presencia de un medio endócrino dominado por progesterona. Johnson et al. (1991) encuentran que hay diferencia en la concentración de andrógenos en el líquido folicular y células de la granulosa entre folículos que se desarrollaron en un ambiente con o sin progesterona, y que esta diferencia puede influir para que se desarrolle o no un cuerpo lúteo de vida normal.

Estos hallazgos sugieren que en el ganado Cebú existe un periodo estacional y que el reinicio de la ciclicidad es similar al que se presenta en la etapa puberal.

Por último la palpación rectal es un herramienta eficiente para detectar la presencia de CL funcionales para ganado Cebú y

Holstein-Cebú. No existen diferencias en la palpabilidad del cuerpo lúteo entre razas ni entre meses. Sin embargo, la eficiencia del diagnóstico del cuerpo lúteo variará dependiendo del número de animales ciclando en el hato, siendo la eficiencia más alta entre mayor sea la proporción de animales ciclando y con CL, lo que explica el porque otros autores han encontrado un aparente mejor eficiencia en la palpación del cuerpo lúteo en verano que en invierno (Voh et al., 1987).



## CONCLUSIONES

El ganado Cebú tiene una disminución en su capacidad reproductiva durante los meses de invierno y ésta mejora hacia los meses más cálidos. En cambio el ganado Holstein-Cebú no se ve afectado en su capacidad reproductiva durante estos meses.

Los animales Cebú no ciclando tienen un incremento en la actividad ovárica en los días previos al inicio de la ciclicidad, y esta actividad es más manifiesta en los animales en transición que en animales anéstricos.

Los folículos de tipo F2 y F3 se desarrollan inhibiendo el crecimiento de folículos de menor tamaño, sugiriendo que esta inhibición sea la causa de la presencia de oleadas foliculares durante el ciclo estral.

En el ganado Holstein-Cebú, así como el Cebú puro, existe durante el ciclo estral, oleadas de crecimiento y regresión de folículos y el patrón más dominante parece ser de dos oleadas por ciclo.

El diagnóstico de un CL maduro por medio de la ultrasonografía es un buen indicador de la capacidad endócrina del mismo.

La palpación rectal resulta ser un buen indicador de la presencia de un cuerpo lúteo activo, y no existe diferencia en cuanto a la palpabilidad del cuerpo lúteo entre razas ni entre meses del año.

La palpación no mostró ser un buen indicador de la presencia de folículos, cuando se consideran estos a partir de los 6 mm. de diámetro.

## BIBLIOGRAFIA

Aguilar A., Galina C.G. y Hummel J.: Estudio morfológico comparativo de los ovarios de la vaca cebú y la vaca Holstein. Vet Mex 14:133-136 (1983).

Aleksiev, A.I., Peeva, T., Vasilev, M., Folikhronov, O.; Effect of season of calving on reproductive performance and productivity of buffalo cows. Zhivotnov'd Nauki 25:3-10 (1988).

Anta, E., Rivera, J.A., Galina, C., Porras, A. y Zarco, L.: Análisis de la información publicada en México sobre eficiencia reproductiva de los bovinos. II Parámetros reproductivos. Vet. Mex. 20:11-18 (1989).

Archbald L.F., Tran T., Massey R. and Klepstein E.: Conception rates in dairy cows after timed insemination and simultaneous treatment with Gonadotrophin releasing hormone and/or prostaglandin F2 alpha. Theriogenology 37:723-731 (1992).

Arendsen de Wolff-Exalto, E.; Influence of gonadotrophins on early follicle cell development and early oocyte growth in the immature rat. J. Reprod. Fertil. 66:537-544 (1982).

Arendt, J., Symons, A.M., English, J., Poulton, A.L. and Tobler, I.; How does melatonin control seasonal reproductive cycles? Reprod. Nutr. Dev. 28:387-397 (1988).

Basurto C.H.: Relación entre algunas variables ambientales con la producción de leche y la eficiencia reproductiva en vacas F1 (Holstein X Indobrasil) en el trópico húmedo de México. Tesis de Maestría, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1992.

Beard, A.J., Savva, D. Glencross, R.G. McLeod, B.J. and Knight, P.G.; Treatment of ovariectomized heifers with bovine follicular fluid specifically suppresses pituitary levels of FSH-Beta messenger RNA. J. Mol. Endocrinol. 3:85-92 (1989).

Bittman, E.L., Karsch, F.J. and Hopkins, J.W.; Role of the pineal gland in ovine photoperiodism: regulation of seasonal breeding and negative feedback effects of estradiol upon luteinizing hormone secretion. Endocrinology 113:329-336 (1983).

Bittman, E.L., Kaynard, A.H., Olster, D.H., Robinson, J.E., Yellon, S.M. and Karsch, F.J.; Pineal melatonin mediates photoperiodic control of pulsatile luteinizing hormone secretion in the ewe. Neuroendocrinology 40:409-418 (1985).

Boletín informativo. Centro de Investigación, Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical. Tlapacoyan, Veracruz. 1985/1986.

Braden, T.D., King, M.E., Odde, K.G., Niswender, G.D.; Development of preovulatory follicles expected to form short-lived corpora lutea in beef cows. J. Reprod. Fertil. 85:97-104 (1989).

Brinkley, H.J.; Endocrine signaling and female reproduction. Biol Reprod. 24:22-43 (1981).

Bulman, D.C. and Lamming, G.E.; Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. J. Reprod. Fert. 54:447-458 (1978).

Cahill, L.P.; Folliculogenesis in the sheep as influenced by breed, season and oestrous cycle. J. Reprod. Fertil. Suppl. 30:135-142 (1981).

Chemineau, P., Pelletier, J., Guerin, Y., Colas, G., Revault, J.P., Toure, G., Almeida, G., Thimonier, J. and Ortavant, R.; Photoperiodic and melatonin treatments for the control of seasonal reproduction in sheep and goats. Reprod. Nutr. Dev. 28:409-422 (1988).

Chicoteau, P., Coulibaly, M., Bassinga, A. and Cloe, C.; Seasonal variations in the reproductive function of Baoule cattle in Burkina Faso. Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop. 43:392-393 (1990).

Claire Bulman, D. and Lamming, G.E.; Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. J. Reprod. Fert. 54:447-458 (1978).

Coleman, D.A. and Dailey, R.A.: Effects of repeated removal of large ovarian follicles and treatment with progestin or ovarioan function in the ewe. Biol Reprod 29: 203 (1983).

Day, M.L., Imakawa, K., Pennel, D., Zalesky, D.D., Clutter, A.C., Kittok, R.J., and Kinder, J.E.: Influence of season and estradiol on secretion of luteinizing hormone in ovariectomized cows. Biologogy of Reproduction 33:549-553 (1986).

Dobson, S.E., Mcleod, B.J., Haresign, W., Peters, A.R., Lamming, G.E. and Das, D.; Ovarian control of gonadotrophin secretion in the prepubertal heifer. Anim. Reprod. Sci. 21:1-10 (1989).

Driancourt, M.A., Fry, R.C., Clarke, I.J. and Cahill, L.P.; Follicular growth and regression during the 8 days after hypophysectomy in sheep J. Reprod. Fert. 79:635-641 (1987).

Driancourt, M.A.: Follicular Dynamics in sheep and cattle. Theriogenology 35:55-79 (1991).

Driancourt, M.A., Thatcher W.W., Terqui M. and Andrieu D.: Dynamics of ovarian follicular development in cattle during the estrous cycle, early pregnancy and in response to PMSG. Domestic Animal Endocrinology 8:209-221 (1991).

Ebling, F.J., Kushler, R.H. and Foster, D.L.; Pulsatile LH secretion during sexual maturation in the female sheep: photoperiod regulation in the presence and absence of ovarian steroid feedback as determined in the same individual. Neuroendocrinology 52:229-237 (1990).

Echternkamp, S.E., Spicer, L.J., Gregory, K.E., Canning, S.F. and Hammond, J.M.: Concentrations of insulin-like growth factor-I in blood and ovarian follicular fluid of cattle selected for twins. Biol. Reprod. 43:8-14 (1990).

Enriquez de la Fuente A., Análisis de los registros de una explotación de ganado cebú para establecer la época propicia de un empadre estacional. Tesis de licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1991.

Escobar, F.J., Fernández-Baca, S., Galina, C.S., Berruecos, J.M. y Saltiel, A.: Estudio del intervalo entre partos en bovinos productores de carne en una explotación del altiplano y otra en zona tropical húmeda. Vet. Mex. 13: 53-60 (1982).

Fortune, J.E., Sirois, J., Turzillo, A.M. and Lavoit, M.; Follicle selection in domestic ruminants. J. Reprod. Fert. 43:187-198 (1991).

Foster, D.L. and Ryan, K.D.; Endocrine mechanisms governing transition into adulthood in female sheep. J. Reprod. Fert. Suppl. 30.:75-90 (1981).

Foster, D.L., Yellon, S.M. and Olster, D.H.; Internal and external determinants of the timing of puberty in the female. J. Reprod. Fertil. 75:327-344 (1985).

Fauconneau, B.; Gauthier, D.: Influencia de 4 horas complementarias de luz sobre el crecimiento y la aparición de la pubertad en novillonas criollo criadas en un país tropical. Revista Cubana de Reproducción Animal. 10:49-57 (1984).

Fulkerson, W.J. and Dickens, A.J.: The effect of season on reproduction in dairy cattle. Australian Vet. J. 62: 365-367 (1985).

Galen, S.R.: New math in the lab. Predictive value theory. Diagnostic Medicine. 31-39 (1979).

Galina G.S., and Arthur, G.H.: Review of cattle reproduction in the tropics. Part 1. Puberty and age at first calving. Animal Breeding Abstract 57: 583-590 (1989a).

Galina G.S., and Arthur, G.H.: Review of cattle reproduction in the tropics. Part 2. Parturition and calving interval. Animal Breeding Abstract 57: 678-686 (1989b).

Galina G.S., and Arthur, G.H.: Review of cattle reproduction in the tropics. Part 4. Oestrus cycles. Animal Breeding Abstract 58: 697-707 (1990).

Galina, C.S., Murcia, C., Beatty, A., Navarro-Fierro R., Porras, A.: Reproductive performance of Zebu cattle in México. Proceedings Regional network for improving the reproductive management of meat and milk-producing livestock in Latin America with the aid of radioimmunoassay techniques. Bogota Colombia:213-220 (1990).

García, M.E.: Modificación del sistema de clasificación climatológica de Köppen. Ed. Offset Larios S.A., México (1981).

Gerstmann, B.B: and Cappucci, D.T.: Evaluating the reliability of diagnostic test results. JAVMA, 188:248-251 (1986).

Ginther, O.J.; Reproductive biology of the mare: Basic and applied aspects. 1st edition. Equiservices. Cross Plains, Wisconsin. 1979.

Ginther, O.J.: Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare. 3rd ed., Equisonics, USA, 1986.

Ginther, O.J.; Folliculogenesis during the transitional period and early ovulatory season in mares. J. Reprod. Fertil. 90:311-320 (1990).

Gutiérrez Aguilar, C.G.; Influencia de la jerarquía social del hato sobre la presentación del estro en novillonas cebú. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1991.

Hackett, A.J. and Wolynetz, M.S.; Effectiveness of photoperiod stimulation on reproductive performance of sheep housed continuously indoors on an accelerated breeding schedule. Can. J. Comp. Med. 46:400-404 (1982).

Hafez, E.S.E. Reproducción e inseminación artificial en animales. 5a. ed. Editorial Interamericana. McGraw-Hill, México 1987.

Hañsel W, and Convey E.: Physiology of estrous cycle. J Anim Sci: 57 404-424, (1983).

Hauser, E.R.; Seasonal effect on female reproduction in the bovine (Bos taurus) european breeds. Theriogenology 21:151-169 (1984).

Haynes, N.B. and Howles, C.M.; The environment and reproduction. In Environmental aspects of housing for animal production, Edited by: Clark, J.A., 63-84. Butterworths. United Kingdom, 1981.

Herdon, H.J., Wilkinson, M., Madani, M.O.; Alpha and beta-adrenergic binding sites in sheep cerebral cortex: characterisation, effects of photoperiod and treatment with estrogen-progesterone. Brain. Res. Bull. 10:159-161 (1983).

Hinshelwood, M.M., Hansen, P.J. and Hauser, E.R.; Short estrous cycles in post partum cows as influenced by level of milk production, suckling, diet, season of calving and interval to first estrus. Theriogenology 18:383-392 (1982).

Hinshelwood, M.M., Kamel, F., Dierschke, D.J. and Hauser, E.R.; Effects of charcoal-extracted follicular fluid on reproductive function in postpartum cows. Domest. Anim. Encocrinol. 8:37-54 (1991).

Hirshfield, A.N.; Development of follicles in the mammalian ovary. Int. Rev. Cytol. 124:43-101 (1991).

Hirshfield, A.N., Waldemar, A. and Schmidt, W.A.; Kinetic aspects of follicular development in the rat. Adv. Exp. Med. Biol. 219:737-742 (1987).

Hussein, F.M., Paccamonti, D.L., Eilts, B.E. and Younis, M.Y.M.; Comparison of ovarian palpation, milk progesterone and plasma progesterone in the cow. Theriogenology 38:431-439 (1992).

Inskip, E.K., Braden, T.D., Lewis, P.E., Garcia Winder, M. and Niswender, G.D.; Receptors for luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in largest follicles of postpartum beef cows. Biol. Reprod. 38:587-591 (1988).

Johnson, S.K., Lewis, P.E. and Inskip, E.K.; Steroid and cyclic AMP in follicles of postpartum beef cows treated with norgestomet. J. Anim. Sci. 69:3747-3753 (1991).

Karsch, F.J.; A role for melatonin as a timekeeping hormone in the ewe. J. Neural. Transm. Suppl. 21:109-124 (1986).

Karsch, F.J., Cummings, J.T., Thomas, G.B. and Clarke, I.J.; Steroid feedback inhibition of pulsatile secretion of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. Biol. Reprod. 36:1207-1218 (1987).

Karsch, F.J., Malpaux, B., Wayne, N.L. and Robinson, J.E.; Characteristics of the melatonin signal that provide the photoperiodic code for timing seasonal reproduction in the ewe. Reprod. Nutriv. Dev. 28:459-472 (1988).

Kastelic J.P., Bergfelt D.R. and Ginther O.J.: Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentrations in heifers. Theriongenology 33:1269-1278 (1990).

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

Larson, G.H., Mallory, D.S., Dailey, R.A. and Lewis, P.E.; Gonadotropin concentrations follicular development and luteal function in pituitary stalk-transected ewes treated with some bovine follicular fluids. J. Anim. Sci. 69:4101-4111 (1991).

Lamothe-Zavaleta, C., Fredriksson, G. and Madej, A.: Reproductive performance of zebu cattle in Mexico 1. Sexual behaviour and seasonal influence on estrous cyclicity. Theriongenology 36:887-896 (1991a).

Lamothe-Zavaleta, C., Fredriksson, G. and Madej, A.: Reproductive performance of zebu cattle in Mexico 2. Seasonal influence on the levels of progesterone, estradiol-17-beta, cortisol and LH during the estrous cycle. Theriongenology 36:897-912 (1991b).

Leach, C.: Fundamentos de estadística. Enfoque no paramétrico para ciencias sociales. 1a. edición. Ed. Limusa. 1982.

Legan, S.J. and Karsch, F.J.; Importance of retinal photoreceptors to the photoperiodic control of seasonal breeding in the ewe. Biol. Reprod. 29:316-325 (1983).

Linares, T. and Plasse, D: Comportamiento reproductivo de Bos taurus y Bos indicus y sus cruzas en el llano venezolano. Memorias ALPA 9:289 (1974).

Lincoln, G.A. and Short, R.V.; Seasonal breeding: Nature's Contraceptive. Rec. Proq. Horm. Res. 36:1-52 (1980).

Lincoln, G.A., Ebling, F.J. and Almeida. O.F.; Generation of melatonin rhythms. Ciba Found. Symp. 117: 129-148 (1985).

Littell, R.C., Freund, R.J. and Spector, P.C.: SAS System for linear models. Third Edition. SAS Institute Inc. NC, USA. 1992.

Lucy, M.C., Thatcher, W.W., and Macmillan, K.L.; Ultrasonic identification of follicular populations and return to estrus in early postpartum dairy cows given intravaginal progesterone for 15 days. Theriogenology 34:325-340 (1990).

Lucy, M.C., Staples, C.R., Michel, F.M. and Thatcher, W.W.: Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. J. Dairy Sci. 74:473-482 (1991a).

Lucy, M.C., Staples, C.R., Michel, F.M., Thatcher, W.W. and Bolt, D.J.; Effect of feeding calcium soaps to early postpartum dairy cows on plasma prostaglandin F-2 alpha luteinizing hormone and follicular growth. J. Dairy Sci. 74:483-489 (1991b).

Macmillan, K.L. and Thatcher, W.W.; Effects of an agonist gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. Biol. Reprod. 45:883-889 (1991).

Malpaux, B., Robinson, J.E., Brown, M.B. and Karsch, F.J.; Importance of changing photoperiod and melatonin secretory pattern in determining the length of the breeding season in the Suffolk ewes. J. Reprod. Fertil. 83:461-470 (1988).

Mariana J.; Some remarks on the long term trends and some short regulations in the follicular growth. IX Congreso Internacional de Reproducción . España, 1980.

Martínez, A., Galina, C., Basurto, H., Lamothe, C. y Aluja, A.: Evaluación de la actividad reproductiva en diferentes sistemas de producción lechera en el municipio de Tlapacoyan, Veracruz, México. Vet. Mex. 19:295-299 (1988).

McLaren A.: Folliculogenesis and ova production. IX Congreso Internacional de Reproducción . España, 1980.

McNatty, K.P., Hudson, N., Gibb, M., Henderson, K.M., Lun, S. Heath, D. and Montgomery, G.W.; Seasonal differences in ovarian activity in cows. J. Endocr. 102:189-198 (1984).

Merchant, L.H.; Gametogénesis. En "Temas Selectos de Biología de la Reproducción." 1a edición. Editada por Domínguez C.R. 11-40. Ed. Miguel Ángel Porrúa. México D.F. 1991.

Meyer, S.L. and Goodman, R.L.; Separate neural systems mediate the steroid dependent and steroid independent suppression of tonic luteinizing hormone secretion in the anoestrus ewe. Biol. Reprod. 35:362-371 (1986).

Minton, J.E.; Role of photorefractoriness in onset of anoestrus in Rambouillet X Dorset ewes. J. Reprod. Fertil. 89:261-268 (1990).



Mondschein J, Canning S, Miller D, and Hammond J.: Insulin-like growth factors (IGFs) as autocrine/paracrine regulators of granulosa cell differentiation and growth: studies with a neutralizing monoclonal antibody to IGF-1. Biol Reprod: 40 79-85, 1989.

Moore, G.P.M. and Lintern-Moore, S.; Ann. Bio. Anim. Bioch. Biophys. 19(5):1409-1417 (1979).

Moran, C., Quirke, J.F. and Roche, J.F.; Puberty in heifers: a Review Anim. Reprod. Sci 18:167-182 (1989).

Moreno, I.Y.D., Galina, C.S., Escobar, F.J., Ramírez, B. and Navarro-Fierro, R.; Evaluation of the lytic response of prostaglandin F2 alpha in zebu cattle based on serum progesterone. Theriogenology 25:413-421 (1986).

Morris, D.G., McDermott, M.G. and Sreenan, J.M.; Effect of immunizing prepupal lambs of low and high ovulation rate genotypes with inhibin partially purified from bovine follicular fluid Theriogenology 35:339-350 (1991).

Mulheron, C.W., Quattropani, S.L. and Nolin, J.M.; On the intrinsic control of the developmental transition from primordial to primary follicle. Adv. Exp. Med. Biol. 219:737-742 (1987).

Murphy B. Claire E, Lindsell E. and Xin -MIn: Endogenous inhibitors of follicle development. Second Research Coordination Meeting of the FAO/IAEA Coordinated Research Programme. México, 1991.

Murphy, M.G., Boland, M.P. and Roche, J.F.; Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. J. Reprod. Fert. 90:523-533 (1990).

Narasimha, R.A.V.: Causes and incidence of reproductive disorders among zebu X taurus cross-bred cows in Andhra Pradesh. Theriogenology 17:189-192 (1982).

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

Ortavant, R., Bocquier, F., Pelletier, J., Ravault, J.P., Thimonier, J., Volland-Nail, P.: Seasonality of reproduction in sheep and its control by photoperiod. Aust. J. Biol. Sci. 41:69-85 (1988).

Ott, R.S., Bretslaff, K.N. and Hixon, J.E.: Comparison of palpable corpora lutea with serum progesterone concentrations in the cows. JAVMA 188:1417-1419 (1977).

Padmanabhan V., Ebling, F.J.P., Sonstein, J., Fenner, D.E., Kelch, R.P., Foster, D.L. and Beitins, I.Z.; Bioactive follicle stimulating hormone release in nutritionally growth-retarded ovariectomized lambs: Regulation by nutritional repletion. Endocrinology 125:2517-2526 (1989).

Pathiraja N., Oyedipe E.O., Voh Jr., A.A. and Dawuda, P.M.: Accuracy of rectal palpation in the diagnosis of corpora lutea in zebu cows. Br. Vet. J. 142:467-471 (1986).

Pelletier, J.; Contribution of increasing and decreasing daylength to the photoperiodic control of LH secretion in the Ile de France ram. J. Reprod. Fertil. 77:505-512 (1986).

Peters, A.R. and Lamming, G.E.; Reproductive activity of the cow in the post-partum period. II. Endocrine patterns and induction of ovulation. Br. Vet. J. 140: (1984).

Pierson R.A. and Ginther O.J.: Ultrasonography of the bovine ovary. Theriogenology 21:495-504 (1984).

Pierson R.A. and Ginther O.J.: Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. Theriogenology 28:929-936 (1987).

Pierson R.A. and Ginther O.J.: Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. Theriogenology 29:21-37 (1988).

Plasse, D., Warnich, A.C. and Koger, M.: Reproductive behaviour of Bos indicus females in a subtropical environment I. Puberty and ovulation frequency in brahman and brahman x british females. J. Anim. Sci 27:94-100 (1968).

Plasse, D., Warnich, A.C. and Koger, M.: Reproductive behaviour of Bos indicus females in a subtropical environment IV. length of estrus cycles, duration of estrus, time of ovulation, fertilization and embryo survival in grade Brahman heifers. J. Anim. Sci. 30:63-72 (1970).

Plunkett S.S., Stevenson J.S. and Call E.P.: Prostaglandin F<sub>2α</sub> for lactating dairy cows with a palpable corpus luteum but unobserved estrus. J Dairy Sci 67:380-387 (1984).

Putu, I.G., Lubis, A. and Flechter, I.C.; Reproduction in swamp buffalo cows after oestrous synchronization at two mating seasons and two levels of nutrition. Anim. Reprod. Sci. 11:99-109 (1986).

Rajamahendran, R. and Taylor, C.; Characterization of ovarian activity in postpartum dairy cows using ultrasound imaging and progesterone profiles. Anim. Reprod. Sci. 22:171-180 (1990).

Randel, R.D.; Seasonal effects on female reproductive functions in the bovine (Indian breeds). Theriogenology 21:170-185 (1984).

Rao, L.V. and Pandley, R. S.; Seasonal variations in estradiol 17-Beta and luteinizing hormone in the blood of buffalo cows Bubalus-Bubalis. J. Endocrinol 98:251-256 (1983).

Redmar, D.A., Kirsch, J.D. and Reynolds, L.P.; Production of mitogenic factors by cell types of bovine large estrogen-active and estrogen-inactive follicles. J. Am. Sci. 69:237-245 (1991).

Robinson, J.E., Radford, H.M. and Karsch, F.J.; Seasonal changes in pulsatile luteinizing hormone (LH) secretion in the ewe: Relationship of frequency of LH pulses to day length and response to estradiol negative feedback. Biol. Reprod. 33:324-334 (1985).

Roche, J.E. and Boland M.P.; Turnover of dominant follicles in cattle of different reproductive states. Theriogenology 35:81-90 (1991).

Rodriguez, M.R.; Efecto de la suplementación sobre el inicio de la actividad reproductiva de la oveja Tabasco o pelibuey. Tesis de Doctorado en Produccion Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. 1991.

Rubio, I., Moreno, I.Y.D., Galina, C.S., Escobar, F.J., Ramirez, B., Navarro Fierro, R.: Progesterona sérica, expresión de estro y fertilidad después de la inyección de prostaglandina F2 $\alpha$  en ganado cebú en verano e invierno. Vet. Mex. 20: 145-149 (1989).

Savio, J.D., Boland, M.P. and Roche, J.F.; Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. J. Reprod. Fert. 88:581-591 (1990).

Schultze, D., Brunswig, B. and Mukhopadhyay A. K.: Renin and Prorenin-like activities in bovine ovarian follicles. Endocrinology 124:1389-1398 (1989).

Seidal, G. y Niswender, G.; Control of folliculogenesis and ovulation in domestic animals: puberal and adult function. IX Congreso Internacional de Reproducción. España, 1980.

Short, R.E. and Adams, D.C.: Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. Can. J. Anim. Sci. 68:29-39 (1988).

Silva E., Galina C.S., Porras A. and Galina M.A.: Evaluation of postpartum activity by rectal palpation, oestrus detection and progesterone concentration in dairy cows reared in the dry tropics of Mexico. 12th. International Congress on Animal Reproduction. p. 108 (1992).

Silvia, P.J., Squires, E.L., and Nett, T.M.; Pituitary responsiveness of mares challenged with GnRH at various stages of the transition into the breeding season. J. Anim. Sci. 64:790-796 (1987).

Sirois, J. and Fortune, J.E.; Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. Biol. Reprod. 39:308-317 (1988).

Sirois, J. and Fortune, J.E.; Monitoring ovarian follicular development in cattle by ultrasound imaging: a 1990 update. Embryo Transfer Newsletter 8:9-16 (1990).

Sizonenko, P.C., Lang, U., Rivest, R.W. and Aubert, M.L.; The pineal and pubertal development. Ciba Found. Symp. 117:208-230 (1985).

Spicer, L.J., Leung, K., Convey, E.M., Gunther, J., Short, R.E. and Tucker, H.A.; Anovulation in postpartum suckled veef cows. 1. Associations among size and numbers of ovarian follicles, uterine involution and hormones in serum and follicular fluid. J. Anim. Sci. 67:734-741 (1986).

Sprecher, D.J. and Nebel, R.L.: B-mode ultrasonic morphology of bovine follicular and luteal ovarian cysts. Agri-Practice 2:5-8 (1988).

Sprecher D.J., Nebel, R.L. and Whiteman, S.S.: The predictive value, sensitivity and specificity of palpation per rectum and transrectal ultrasonography for the determination of bovine luteal status. Theriogenology 31:1165-1172 (1989).

Srikandakamur, S., Ingrahan, R.H., Ellsworth, M., Archbald, L.F., Liao, A. and Godke, R.A.; Comparison of solid-phase, no extraction radio-immunoassay for progesterone with an extraction assay for monitoring luteal function in the mare, bitch and cow. Theriogenology 26:779-793 (1986).

Stahinger, R.C., Neuendorff, D.A. and Randel, R.D.: Seasonal variations in characteristics of estrous cycles in pubertal brahman heifers. Theriogenology 34: 407-415 (1990).

Steel, R. G. D. and Torrie, J.H.; Principles and procedures of statistics. A biometrical approach. 2nd edition. McGraw-Hill Kogakusha, Ltd. Tokyo, Japan. 1980.

Stumpf M. Day L. Wolfe M. Clutter A. Stotts J. Wolfe P. Kittok R. and Kinder J.; Effect of estradiol on secretion of luteinizing hormone during the follicular phase of the bovine estrous cycle. Biol of Reprod. 40: 91-97 (1989).

Sutama, I.K., Edey, T.N. and Fletcher I.C.; Peri-pubertal ovulatory events and progesterone profiles of Javanese Thin-Tail sheep. Anim. Reprod. Sci. 16:53-60 (1988).

Szollosi D.; Interaction between oocyte and follicle in vivo. IX Congreso Internacional de Reproducción . España, 1980.

Taylor, C. and Rajamahendran, R.; Follicular dynamics and corpus luteum growth and function in pregnant versus nonpregnant dairy cows. J. Dairy Sci. 74:115-123 (1991).

Thatcher W.W. and Thimonier J.: Evaluation of reproductive status based on progesteron measurment. Univ. Florida, Gainesville, Florida, 1980.

Thiery, J.C. and Martin, G.B.; Neurophysiological control of the secretion of gonadotrophin-releasing hormone and luteinizing hormone in the sheep. A review. Repro. Fertil. Dev. 3:137-173 (1991).

Troxel, T.R. and Kesler, D.J.; The efect of progestin and GnRH treatments on ovarian function and reproductive hormone secretions of anoestrus postpartum suckled beef cows Theriogenology 21:699-711 (1984).

Tucker, H.A.; Seasonality in cattle. Theriogenology 17:53-59 (1982).

Tucker, H.A., Petitclerc, D. and Zinn S.A.; The influence of photoperiod on body weight gain, body composition, nutrient intake and hormone secretion. J. Anim. Sci. 59:1610-1620 (1984).

Turzillo A, and Fortune J,; Suppression of the secondary FSH surge with bovien follicular fluid is associated with delayed ovarian follicular development in heifers. J. Reprod Fert 89: 643-653, (1990).

Vaca L.A., Galina C.S., Fernandez-Baca S., Escobar J. y Ramirez B.: Progesterone levels and relationship with the diagnosis of a corpus luteum by rectal palpation during the estrus cycle in zebu cows. Theriogenology 20:67-76 (1983).

Vaccaro, L.P.: Some aspects of the performance of purebred and crossbred dairy cattle in the tropics. Anim. Breed. Abstr. 41:571-591 (1973).

Voh Jr.A.A., Oyedipe E.O., Buvanendran V. and Kumi-Diaka, J.: Estrus response of indigenous nigerian zebu cows after prostaglandin F2 alpha analogue treatment under continuous observations for two seasons. Theriogenology 28:77-99 (1987).

Walton, J.S., Hause, P.R., Goodwin, M.L. and Watson, C.H.; Ovarian follicle growth in nursing beef cows. J. Anim. Sci. 69:440 (1991).

Watson, E.D. and Munro, C.D.: A reassessment of the technique of rectal palpation of corpora lutea in cows. Br. Vet. J. 136:555-560 (1970).

Wayne, N.L., Malpaux, B. and Karsch, F.J.; How does melatonin code for day length in the ewe: duration of nocturnal melatonin release or coincidence of melatonin with a light-entrained sensitive period? Biol. Reprod. 39:66-75 (1988).

Whisnant, C.S. and Goodman, R.L.; Further evidence that serotonin mediates the steroid-independent inhibition of luteinizing hormone secretion in anestrus ewes. Biol. Reprod. 42:656-661 (1990).

White, L.M., Keisler, D.H., Dailey, R.A. and Inskeep, E.K.: Characteristics of preovulatory follicles destined to form subfunctional corpora lutea. Biol. Reprod. 32: 43 (1985).

Xie S, Broermann D, Nephew K, Ottobre J, Day M, Pope W.; Changes in follicular endocrinology during final maturation of porcine oocytes. Dom Anim Endoc. 7: 75-82, (1990).

Yellon, S.M., Bittman, E.L., Lehman, M.N., Olster, D.H., Robinson, J.E. and Karsch, F.J.; Importance of duration of nocturnal melatonin secretion in determining the reproductive response to inductive photoperiod in the ewe. Biol. Reprod. 32:523-529 (1985).

Zao, K.; Effect of the season of calving on milk production and reproductive performance of buffalo cows. Zhivotnov'd nauki 25:21-26 (1988).

Zakari, A.Y., Molokwu, E.C.I. and Osori, D.I.K.: Effect of season on the oestrus cycle of cows (Bos indicus) indigenous to northern Negeria. Veterinary Record 109:213-215 (1981).

Zemjanis R.: Reproducción animal. Diagnóstico y técnicas terapéuticas. Ed Limusa. S.A. México D.F. pp. 25 (1975).