

01674



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y
DE LA SALUD ANIMAL**

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESQUERÍA

**COMPARACIÓN DE DOS SISTEMAS DE DESTETE PARCIAL (72 HORAS)
EN ALGUNOS PARÁMETROS REPRODUCTIVOS Y DE BIENESTAR
ANIMAL EN GANADO CEBÚ EN EL TRÓPICO DE MÉXICO.**

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A :
VERÓNICA MARTÍNEZ CAMBRAY**

TUTOR: DR. AGUSTÍN ORIHUELA TRUJILLO

**COMITÉ TUTORAL: DRA. TERESA SÁNCHEZ TORRES
DR. CARLOS GALINA HIDALGO**

MÉXICO, D.F.

2005

0350080



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A Mi Padre; El M.V.Z Jorge Federico Martínez Sánchez por ser el mayor impulso en mi profesión, y en mi vida ser la persona que más admiro como padre, amigo y profesionalista.

A Mi Familia; María Socorro, Carmen, Eugenia, Jorge, Rodrigo y Vero por motivarme día a día y ser parte esencial en mi vida.

A Ivan Méndez por su apoyo incondicional, amor y confianza.

AGRADECIMIENTOS

A la FMVZ-UNAM por todas las facilidades prestadas para la realización de esta tesis y con ello contribuir con mi superación personal y profesional.

Al Dr. Agustín Orihuela Trujillo

Por su apoyo, paciencia y dedicación en la realización de este proyecto.

Al Dr. Carlos Galina Hidalgo

Por sus críticas constructivas, buenos consejos y contribuciones en la elaboración de esta tesis.

Al Dr. Ángel R. Pulido Albores por su asesoría, entusiasmo y amistad.

A la M.C. Nuria I. Acevedo Rojas por su confianza, amistad y constante apoyo.

A la Dra. Teresa Sánchez Torres.

Por sus buenos consejos y apreciables contribuciones.

Al M.V.Z M.A.E. José Luis Dávalos y a los miembros de la Secretaría de Producción Animal, por permitirme colaborar durante 2 años como parte de su equipo de trabajo.

RESUMEN

Martínez Cambray Verónica. "Comparación de dos sistemas de destete parcial (72 horas) en algunos parámetros reproductivos y de bienestar animal en ganado Cebú en el trópico de México". Bajo la dirección del Dr. Agustín Orihuela Trujillo, Dra. Teresa Sánchez Torres y el Dr. Carlos S. Galina Hidalgo.

Para estudiar el efecto del destete sobre el reinicio temprano de la ciclicidad ovárica posparto se utilizaron 40 vacas Cebú (con sus crías) entre 45 y 60 días posparto en el trópico de México, las cuales fueron asignadas a uno de dos tratamientos. Tratamiento 1 (Tx1) destete por 72 h con contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo y táctil) de la madre a través de un corral tubular y Tratamiento 2 (Tx2) destete por 72 h sin contacto sensorial entre madre-cría. Ambos tratamientos fueron evaluados a través de un enfoque reproductivo y conductual. Las vacas fueron sincronizadas mediante un dispositivo intravaginal (CIDR) más 2.5 ml de benzoato de estradiol (BE) durante 9 días. Se realizaron 3 muestreos ultrasonográficos para evaluar la actividad ovárica antes y después de la aplicación del CIDR-B y 3 muestreos séricos para la determinación de progesterona para corroborar aquellos animales que iniciaron su actividad ovarica. Los becerros se muestrearon, a partir de un día antes de ser separados de las vacas por 6 días consecutivos. Se realizaron muestreos sanguíneos para la determinación de cortisol sérico en vacas (cort-va) y becerros (cort-be), se determinaron constantes fisiológicas: frecuencia cardiaca (fc), frecuencia respiratoria (fr) y temperatura rectal (temp) y se hicieron dos observaciones conductuales al día de 1 h cada una (cuantificando vocalizaciones, defecaciones y micciones) únicamente en becerros. Los resultados indican que la respuesta ovulatoria al retiro del CIDR-B en las vacas de Tx1 y en las vacas de Tx2, fue de un 10%, observándose un 75 y 85% de las vacas respectivamente, con actividad ovárica a los 15 días después de retirado el CIDR-B, ($p > 0.05$). Los becerros en Tx1 tuvieron valores más altos que los becerros de Tx2 en fc (117.57 ± 3.66 vs 98.87 ± 2.58 pulsaciones/minuto), fr (50.07 ± 1.34 vs 37.80 ± 1.43 respiraciones/minuto), temp (38.80 ± 2.87 vs 24.93 ± 2.71 °C), cort-be (34.80 ± 2.87 vs 24.93 ± 2.71 nmol/ml), encontrándose diferencia ($p < 0.05$) entre tratamientos en estas variables estudiadas. Se concluye que los becerros de Tx2 se "habituán" al tratamiento después de 48 horas de haberse efectuado la separación madre-cría, mientras que los becerros de Tx1 lo hacen hasta las 72 horas de haberse realizado la separación. Encontrando resultados similares en el reinicio de la actividad ovárica de las vacas.

Palabras clave: Conducta, amamantamiento, destete, anestro posparto, sincronización, cebú.

ABSTRACT

"Comparison of two partial weaning systems (72 hours) on some reproductive and well-being parameters of Zebu type cattle in the tropics of Mexico ". Under the direction of Dr. Agustín Orihuela Trujillo, Dra. Teresa Sánchez Torres and Dr. Carlos S. Galina Hidalgo.

In order to study the effect of weaning on early resumption of postpartum ovarian activity, 40 Zebu cows (and their young) between 45 - 60 days postpartum from tropics of Mexico were used. Cows and calves were assigned to one of two treatments. In treatment 1 (Tx1) calves were weaned for 72 h maintaining sensorial contact (auditory, visual, olfactory and tactile) with their mothers through a tubular corral, while in treatment 2 (Tx2) calves were weaned for 72 h without sensorial contact. Both treatments were evaluated through reproductive and behavioral approaches. Cows were induced into estrus by means of an intra-vaginal device (CIDR) hold in place for nine days and the application of 2.5 ml of benzoate of estradiol (BE). Three ultrasound scanning samples were made to evaluate the ovarian activity before and after the application of the CIDR-BE. At the same time three blood samples for progesterone (P4) determination were obtained to corroborate the presence of a corpus luteum. Calves were sampled daily for five consecutive days starting one day before mother-young separation. Blood samples were obtained for serum cortisol determination in cows and calves. In addition some physiological measures were registered: heart rate (hr), respiration rate (fr) and rectal temperature (temp). Furthermore, in calves; vocalization, defecation and urination frequencies were recorded daily during two one-h observation periods. Results show that ovulatory response for Tx1 and Tx2 cows evaluated days after CIDR withdrawal was 10%. When the evaluation occurred 15 days after implant withdrawal, results raised to 75 and 85% ($p > 0.05$) for Tx1 and Tx2, respectively. Calves in Tx1 had higher values ($p < 0.05$) in hr (117.57 ± 3.66 vs 98.87 ± 2.58 beats/min), fr (50.07 ± 1.34 vs 37.80 ± 1.43 breaths/min), temp (38.80 ± 2.87 vs 24.93 ± 2.71 °C), and cortisol concentration (34.80 ± 2.87 vs 24.93 ± 2.71 nmol/ml), in comparison with Tx2 calves. It is concluded that, calves in Tx2 return to all variable levels observed before treatment, 24 h before calves in Tx1 (48 and 72 h after mother young separation, respectively). But ovarian activity was similar in all animals.

Key words: Behavior; Weaning; Postpartum; Anestrus; Synchronization; Zebu

LISTA DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	
2.1 Anestro posparto	4
2.2 Amamantamiento	6
2.3 Estrés	9
2.4 Destete	14
2.5 Involución Uterina	16
2.6 Oleadas Foliculares	17
2.7 Inducción a la sincronización	21
2.7.1 Acciones de la progesterona	23
2.7.2 MGA	25
2.7.3 Norgestomet (Syncro Mate-B)	26
2.7.4 PRID	28
2.7.5 CIDR-B	28
III. JUSTIFICACIÓN	30
IV. HIPÓTESIS	30
V. OBJETIVOS	31
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	32
6.1 Localización	32
6.2 Período experimental	32
6.3 Descripción de los animales	32
6.4 Diseño del experimento	33
6.4.1 Muestreo en vacas y becerros	33
6.4.2 Muestreo en vacas	34
6.4.3 Muestreo en becerros	36

6.5	Alimentación y manejo	39
6.6	Variables evaluadas	39
6.7	Diseño estadístico	40
VII.	RESULTADOS	41
VIII.	DISCUSIÓN	46
IX.	CONCLUSIONES	54
X.	CUADROS	55
XI.	FIGURAS	66
XI.	LITERATURA CITADA	72

Lista de Cuadros

Pag

Cuadro 1	Porcentaje de animales ciclando al inicio del tratamiento, al momento de la sincronización y en la respuesta a la sincronización por medio de examen ultrasonográfico.	55
Cuadro 2	Porcentaje de vacas con concentración de progesterona mayor a 1 ng/ml.	56
Cuadro 3	Valores promedio (\pm EE) por día de tratamiento de la concentración sérica de cortisol en vacas bajo dos sistemas de destete precoz.	57
Cuadro 4	Estadístico descriptivo por tratamiento de las variables frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura, cortisol becerros y cortisol vacas.	58
Cuadro 5	Valores promedio (\pm EE) por día de tratamiento de la Frecuencia cardiaca en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.	59
Cuadro 6	Valores promedio (\pm EE) por día de tratamiento de la frecuencia respiratoria en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.	60
Cuadro 7	Valores promedio (\pm EE) por día de tratamiento de la temperatura rectal ($^{\circ}$ C) en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.	61

Cuadro 8	Valores promedio (\pm EE) por día de tratamiento de la concentración sérica de cortisol en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.	62
Cuadro 9	Frecuencia de vocalizaciones por hora por día de tratamiento en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.	63
Cuadro 10	Número total de micciones por día de tratamiento en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.	64
Cuadro 11	Número total de defecaciones por día de tratamiento en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.	65

Lista de figuras	Pag
Figura 1 Esquema reproductivo y de bienestar del sistema de destete parcial (72 horas) con y sin contacto sensorial madre-cría.	38
Figura 2 Tendencia de los valores promedio por tratamiento a través del tiempo en el muestreo de las concentraciones séricas de cortisol en vacas bajo dos sistemas de destete precoz.	67
Figura 3 Tendencia de los valores promedio por tratamiento a través del tiempo en el muestreo de la frecuencia cardiaca de becerros bajo dos sistemas de destete precoz	68
Figura 4 Tendencia de los valores promedio por tratamiento a través del tiempo en el muestreo de la frecuencia respiratoria de becerros bajo dos sistemas de destete precoz	69
Figura 5 Tendencia de los valores promedio por tratamiento a través del tiempo en el muestreo de la temperatura rectal de becerros bajo dos sistemas de destete precoz	70
Figura 6 Tendencia de los valores promedio por tratamiento a través del tiempo en el muestreo de las concentraciones séricas de cortisol en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.	71

I.- INTRODUCCIÓN

En el trópico de México, la principal actividad pecuaria es la producción de carne; por lo que la producción de crías y la rapidez de crecimiento de éstas son importantes (Segura, 1990), dado que el objetivo en el vínculo vaca-becerro es lograr destetar un becerro por vaca por año. Así, después de un período de gestación de aproximadamente 280 días, la eficiencia reproductiva óptima en estas vacas se vería reflejada en el intervalo entre partos no excediendo a un año. Esto sugiere, que las vacas tienen que volver a quedar gestantes y restablecer una gestación dentro de 80 a 85 días después del parto (Forrest *et al.*, 1980; Beal *et al.*, 1984). Sin embargo, esto no siempre es posible debido a que un factor que limita la productividad del ganado en las regiones tropicales es el largo período de anestro posparto que provoca un prolongado intervalo parto-concepción (IPC) y por tanto disminuye la fertilidad. Entre los principales factores que alargan el anestro posparto y afectan el reinicio de la actividad ovárica, se encuentran el estado nutricional y el amamantamiento de la cría (Segura, 1990; Browning *et al.*, 1994; Bell *et al.*, 1998; Galina *et al.*, 2001).

El amamantamiento y la presencia constante del becerro causa supresión de la pituitaria y variación en la concentración de los niveles séricos de LH (Forrest *et al.*, 1980) disminuyendo la liberación de GnRH y LH, observándose que los niveles séricos más bajos de LH son del día 7 al 14 posparto prolongando el anestro posparto; por el contrario, el destete del becerro incrementa la liberación de GnRH y en consecuencia la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH (Yavas y Walton, 2000^a). Sin embargo, el limitar el contacto entre madres y crías podría afectar a los neonatos en la tasa de crecimiento (Metz, 1987). Hudson y Mullord (1977) encontraron que la vaca y el becerro son capaces de reconocerse rápidamente a pocas horas del nacimiento, caracterizando al ganado bovino por tener lazos estrechos entre la madre y su cría después del parto (Stagg *et al.*, 1998). Así, cuando un becerro es separado de su madre al destete, su comportamiento

cambia, se vuelve más activo y vocaliza mucho más (especialmente durante las primeras 24 h postseparación) además, de tener un período de pérdida de peso y/o un desaceleramiento en su tasa de crecimiento volviéndose más susceptible a enfermedades (principalmente digestivas) (Weary y Chua, 2000).

Quesada *et al.* (2001), mencionan que el retiro del becerro que implique amamantamiento restringido y el destete temporal ocasionan estrés en madre y cría, por lo que esta situación podría modificar los niveles de cortisol y en consecuencia la reproducción.

De lo anterior, resulta clara la existencia de una relación entre la presencia de la cría y su madre con una situación de salud y bienestar hacia ambos.

Price *et al.* (2001) encontraron que los becerros que tenían contacto con su madre a través de una cerca reducían los efectos negativos del estrés al destete en su conducta, mejorando además sus ganancias de peso. Por otra parte, Webb (2002) en un experimento similar, concluye que aquellas vacas que podían ver a sus crías quedaban gestantes más pronto, en contraste con un experimento previo (Quesada *et al.*, 2001) donde se encontró que en vacas separadas por solamente 48 h sin contacto visual entre madre y cría tenían la mejor respuesta evaluada por el porcentaje de animales que ciclaban después del retiro del progestágeno.

Aunque casi todas las hembras responden manifestando estro después del retiro de un implante (con progestageno), las expectativas en cuanto a la fertilidad son moderadas, sobre todo en hembras que al inicio del tratamiento se encuentran en anestro y lactando (Porrás y Galina, 1992). La ciclicidad ovárica se suspende durante la gestación y el posparto temprano y el reestablecimiento de los ciclos reproductivos acompañados de comportamiento sexual posparto es un proceso gradual influenciado por muchos factores, incluyendo la lactación y amamantamiento (Bell *et al.*, 1998; Galina *et al.*, 2001).

Aunque el reinicio de la ciclicidad en ganado *Bos taurus* se da de 2 a 3 semanas posparto, en ganado *Bos indicus* este reinicio se presenta de 35 a 60 días posparto, o incluso más. Usualmente sólo del 30 al 50% de las vacas de esta especie reinician su ciclicidad en este tiempo (Forrest *et al.*, 1980; Beal *et al.*, 1984).

El anestro es más largo en ganado *Bos indicus* que en ganado *Bos taurus*, por lo que la prolongada aciclicidad posparto ó anestro en el ganado *Bos indicus* reduce la eficiencia en la sincronización de estros, y retrasa el empadre como uno de los principales factores que reducen la cría de becerros y causan pérdidas económicas en la industria del ganado de carne (McNeilly, 1988; Peters y Lamming, 1990; Short *et al.*, 1990; Williams, 1990; Yavas y Walton, 2000^b).

De ahí la importancia del uso de un método de sincronización posparto que permita iniciar una nueva oleada folicular, y que al ser combinado con destete temporal puede inducir la ovulación y pueda ser un medio efectivo para incrementar el porcentaje de vacas que ovulan en respuesta al destete precoz, ocasionando el menor estrés posible en madre y cría.

II.- REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Anestro posparto

El anestro posparto es el período de transición durante el cual la función del eje hipotálamo-pituitaria-ovario-útero se recupera de la previa gestación. Las primeras 2 a 3 semanas posparto son necesarias para que se inicie la involución uterina; se de, el almacenamiento de LH en la pituitaria anterior y la oleada y crecimiento folicular en el reinicio de la actividad ovárica (Yavas y Walton, 2000^a).

La duración del anestro posparto, el restablecimiento de la ciclicidad estral y la conducta estral después del parto, son un proceso gradual influenciado por muchos factores fisiológicos y ambientales como el amamantamiento, la nutrición, la estación del año y la edad (Short *et al.*, 1990; Toribio *et al.*, 1995; Galina *et al.*, 2001). Otros factores menores son, la raza, las variaciones genéticas individuales, el estrés, la presencia de toros, las enfermedades, el tipo de parto (partos gemelares, distocias), y la retención de placenta (Short *et al.*, 1990; Galina *et al.*, 2001).

En la década de los 70's se efectuaron numerosos estudios tendientes a resolver el anestro de la lactación en vacas con cría al pie, implementándose lactación controlada o amamantamiento restringido por períodos cortos y el destete precoz, encontrando en este último que cuando las vacas eran destetadas precozmente había una respuesta inmediata al tratamiento, disminuyendo el intervalo posparto en el ganado de carne e incrementando la concentración de LH (Bellows *et al.*, 1974; Smith *et al.*, 1979), lo cual se manifestaba en altos porcentajes de calores y de gestaciones durante los primeros 21 días de la época de empadre (Santos *et al.*, 1979^a; Santos *et al.*, 1979^b).

Diversos investigadores (Santos *et al.*, 1979^a; Santos *et al.*, 1979^b; Toribio *et al.*, 1995; Galina *et al.*, 2001), han demostrado que la lactación tiene un efecto detrimental sobre la eficiencia reproductiva y que en las explotaciones comerciales de ganado *Bos indicus* en las hembras con cría al pié, existe un alto porcentaje de anestro pos-parto y pos-servicio. Lo anterior ocasiona intervalos entre partos prolongados y/o que las vacas den a luz en años alternos. Existe evidencia de que el amamantamiento afecta la función endocrina deprimiendo el desarrollo folicular e inhibiendo la ovulación con un alto porcentaje de estros silenciosos en los animales afectados. Salfen *et al.* (2001), mencionan la importancia de la hormona de crecimiento y del factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF-1) en la ovulación de las vacas durante el ciclo estral. Ellos dicen, que cerca de la primera ovulación posparto, las vacas muestran grandes concentraciones circulantes de IGF-1, el cual puede regular la liberación de gonadotropinas vía efecto del eje hipotálamo-hipófisis-ovario y puede tener también, un papel importante en el crecimiento y desarrollo de los folículos en respuesta a FSH y LH. A este respecto, Stagg *et al.* (1998) observaron que la restricción del becerro incrementa las concentraciones séricas de IGF-1 comparado con amamantamiento *ad libitum*.

La presencia del becerro incrementa las concentraciones de cortisol en la vaca incluso si no está amamantado y por ende su sola presencia retrasa el reinicio de la actividad ovárica. Si se disminuye la duración e intensidad del amamantamiento se reduce el anestro posparto. También se sabe que el efecto del amamantamiento es menos potente conforme los días posparto aumentan (Williams *et al.*, 1996; Galina *et al.*, 2001).

2.2 Amamantamiento

La eyección alveolar de la leche está dada por la estimulación de la teta en respuesta a la liberación de oxitocina de la pituitaria. El amamantamiento y la ordeña con máquina resultan en elevadas concentraciones de oxitocina (Tancin *et al.*, 2001). Sin embargo, cuando la hipófisis ha recuperado la capacidad de respuesta, la percepción inguinal del becerro en la vaca durante el amamantamiento inhibe la secreción de GnRH, incrementando la sensibilidad hipotalámica del generador de pulsos de GnRH al efecto de retroalimentación negativa del 17 β -estradiol ovárico, vía liberación endógena de péptidos opioides (endorfinas y encefalinas) del hipotálamo. Esto resulta en la supresión de la liberación pulsátil de LH, falta de ovulación, y prolongado anestro posparto (Yavas Walton, 2000^b). A este respecto, Forrest *et al.* (1980), observaron que los niveles séricos de LH son deprimidos en el transcurso de una hora después de iniciar el estímulo del amamantamiento.

Silveira *et al.* (1993) y Williams *et al.* (1993) encontraron que el amamantamiento así como la sola presencia del becerro cerca de la vaca puede inhibir el estro y la ovulación. Aunque por otro lado Tancin *et al.* (2001) mencionan que esto influye en la liberación de oxitocina y la eyección de la leche durante la ordeña con máquina, siendo evidente que el ganado de leche es negativamente influenciado si el becerro es removido de la vaca varias semanas después del parto. Por lo que al remover al becerro dentro de la primera semana posparto disminuye la producción de leche en ganado *Bos taurus*. Sin embargo en ganado *Bos indicus* al remover el becerro y la subsecuente obliteración del estímulo del amantamiento se influye en la liberación de gonadotropinas (Toribio *et al.*, 1995).

Los efectos del amamantamiento son mediados a través de la supresión espontánea o inducida de GnRH, en la liberación de LH, teniendo grandes efectos en la expresión del estro y la ovulación (Williams *et al.*, 1993; Fanning *et al.*, 1995;

Toribio *et al.*, 1995). Los opioides actúan de manera directa en las neuronas productoras de GnRH, afectando la liberación de GnRH y de esta manera en forma indirecta regulan la secreción de LH. Algunas observaciones adicionales que apoyan la sugerencia anterior son: 1) existe asociación entre las neuronas productoras de GnRH y las neuronas productoras de opioides, 2) la administración de morfina, agonista de estos opioides, disminuye la concentración de LH después de la separación del becerro, y 3) la administración de antagonistas de opioides, incrementa en seis veces la expresión de la proteína c-fos en neuronas GnRH (Boukhliq *et al.*, 1999). Sin embargo, no se conoce si la liberación de los opioides endógenos dentro del hipotálamo actúa a nivel presináptico por liberar catecolaminas o directamente en la neurona productora de GnRH.

El estímulo del amamantamiento suprime los niveles en el cerebro del almacenamiento y liberación de la hormona luteinizante de la eminencia media, resultando en un decremento en las concentraciones de LH (Zalesky *et al.*, 1990).

Browning *et al.* (1994) y Bell *et al.* (1998), en experimentos con destete parcial encontraron que el restringir el amamantamiento una vez al día por 30 a 90 minutos iniciando en el día 21 a 30 posparto reduce el anestro posparto, mientras que el restringir el amamantamiento a dos veces al día no reduce la duración del anestro posparto (Lamb *et al.*, 1999). El incrementar la intensidad en el amamantamiento deprime significativamente ($p < .01$) la concentración sérica de LH, asumiendo que las vacas que no amamantan tienen niveles séricos más altos que aquellas vacas que amamantan (Forrest *et al.*, 1980).

En un estudio con vacas mastectomizadas con becerro al pie, Viker *et al.* (1993) encontraron que las vacas no mostraban signos de estro u ovulación. Sin embargo, cuando las vacas eran separadas de sus becerros entre 46 y 53 días posparto, todas las vacas ovulaban en el transcurso de 4 días de separar al becerro, y se reducía el intervalo posparto en comparación con aquellas vacas que

amamantaban. Por otra parte, Forrest *et al.* (1980) mencionan que en vacas que no están amamantando el intervalo del parto a la primera ovulación es de 24 días y para vacas que están amamantando de 43 días. Sin embargo, en vacas en ordeña el intervalo del parto al primer estro es de 54 días comparado con 84 días en vacas que están criando. Esto se puede apreciar mejor al hacer comparaciones con vacas mastectomizadas, vacas sin amamantar y vacas amamantando, que reinician al estro en 12, 25 y 65 días después del parto respectivamente.

También se ha asociado al amamantamiento con la liberación de prolactina. Aunque al incrementarse la liberación de prolactina se observa una reducida fertilidad en mujeres que están lactando, estudios en vacas posparto han fallado al revelar una asociación entre el amamantamiento y la liberación de prolactina. La asociación de la liberación de prolactina con el amamantamiento se debe al contacto inguinal, por lo que estos estudios (Stevenson *et al.*, 1994; Yavas y Walton, 2000^b), indican que la prolactina no modula el efecto de anovulación durante el amamantamiento en ganado bovino. El estrés incrementa las concentraciones séricas de prolactina. Sin embargo la liberación de LH permanece relativamente sin ser afectada (Forrest *et al.*, 1980).

Fanning *et al.* (1995), mencionan que los becerros destetados y los becerros que permanecen sin amamantar con contacto visual, auditivo y olfativo de la vaca, pierden peso durante las 48 horas del período del tratamiento, mientras que los becerros que son amamantados ganan peso. Sin embargo, ellos afirman que en el postratamiento los becerros destetados y los becerros que permanecen sin amamantar con contacto visual, auditivo y olfativo de la vaca ganan peso, resultando en pesos similares entre tratamientos.

2.3 Estrés

El estrés es definido como una alteración de la homeostasis, que por medio de estresores estimula una serie de respuestas complejas adaptativas, y cuando estas respuestas son inadecuadas, excesivas o prolongadas se ven afectados algunos sistemas fisiológicos tales como el reproductivo.

La homeostasis se describe como "el proceso en la coordinación fisiológica en la cual se mantiene el estado de mayor tranquilidad en el organismo". Se asume que este cuidado corresponde al sistema nervioso simpático, como un sistema "homeostático" esencial que promueve la supervivencia del organismo, ayuda a restaurar los efectos del estrés-inducido que perturba la homeostasis (Tilbrook *et al.*, 2000).

Los principales componentes de la respuesta al estrés involucran dos sistemas endocrinos; uno involucra a la epinefrina (adrenalina) de la médula adrenal y el otro involucra a los glucocorticoides de la corteza adrenal y a otras hormonas incluyendo la prolactina, glucagon, hormona tiroidea y vasopresina secretadas de varios órganos endocrinos (Nelson, 2000).

Se han demostrado los efectos estimulatorios de la epinefrina en el sistema respiratorio y cardiovascular. Usualmente la epinefrina es la primera hormona que actúa causando profundos cambios en el tono respiratorio y cardiaco (Nelson, 2000). Un estresor activa al eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y al sistema simpático-adrenal (consiste del sistema nervioso simpático y de la médula adrenal). La activación de este sistema provoca la liberación de noradrenalina de las terminales nerviosas postganglionares, mientras la inervación preganglionar de la médula adrenal resulta en una incrementada secreción de catecolaminas, principalmente adrenalina, dentro del sistema sanguíneo. Los glucocorticoides y las catecolaminas actúan comúnmente para disminuir los efectos del estrés (Tilbrook

et al., 2000), se cree que las catecolaminas incrementan las señales de alerta y realzan el aprendizaje y la memoria (Nelson, 2000).

La liberación prolongada de glucocorticoides (GC: Cortisol o corticosterona) afecta aparentemente todos los órganos y sistemas; la regulación del metabolismo, el balance hidromineral, el crecimiento, desarrollo y función neuronal. Se producen bajo condiciones catabólicas y se liberan en pocos minutos en respuesta a perturbaciones osmóticas y a estrés, la corticosterona en roedores, aves y reptiles y el cortisol en primates y carnívoros (Borski, 2000; Nelson, 2000).

La asociación entre estrés y glucocorticoides ha dirigido el argumento general de que los glucocorticoides son los que conducen directamente los efectos inhibitorios del estrés en la reproducción. Varios estudios han mostrado que la administración de glucocorticoides naturales pueden inhibir la secreción de gonadotropinas en la oveja, en el cerdo, bovinos y primates. Sin embargo, no siempre es así, particularmente en situaciones de estrés agudo (Tilbrook *et al.*, 2000).

El estímulo del estrés es inducido por 2 tipos de respuesta: 1) Respuesta general al estrés, en la cual es común que todos los estresores involucren la liberación de ACTH y corticosterona adrenal; 2) Respuesta individual al estrés mediada por "factores condicionantes" como lo es una determinada predisposición genética (Tilbrook *et al.*, 2000). Sin embargo, después de un evento que ocasione estrés, la respuesta celular va a ser acompañada de la acción de más esteroides (neurotransmisores, moléculas lipídicas, hormona tiroidea y vitamina D3)(Borski, 2000).

La estimulación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal se caracteriza por la activación de las neuronas liberadoras del factor liberador de corticotropina (CRF) y arginina vasopresina (AVP) en el núcleo paraventricular, y la secreción de estos neuropéptidos dentro del sistema portal hipotálamo-hipofisiario para estimular a

los corticotropos de la adenohipofisis. Los corticotropos, son células que producen una variedad de péptidos derivados de la Pro-opiomelanocortina, incluyendo a la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), β -endorfinas y a la hormona estimulante de los melanocitos, las cuales son liberadas en respuesta al estrés (Engler *et al.*, 1989). La significancia fisiológica de la liberación de β -endorfinas y de la hormona estimulante de los melanocitos durante el estrés aún no está bien clara, la ACTH actúa en la corteza de las glándulas adrenales para estimular la síntesis y secreción de glucocorticoides. Estos glucocorticoides ejercen acciones de retroalimentación negativa en la unidad hipotálamo-hipófisis para regular la secreción de CRF, AVP y ACTH (Plotsky *et al.*, 1989).

Los resultados en respuesta al estrés son contradictorios sobre todo en ganado lechero, ya que la homeostasis puede ser alterada por la separación del becerro de su madre. Los becerros que son separados de sus madres poco tiempo después del parto permanecen inquietos y vocalizan más. El restringir el régimen de crianza podría tener efectos negativos a corto plazo en el becerro, ciertamente disminuye el consumo de leche y necesita del cuidado materno. Al igual, en las vacas productoras de leche bajo condiciones novedosas de estrés, trae como consecuencia la inhibición de la liberación de oxitocina (Tancin *et al.*, 2001). Sin embargo, se cree que en edades avanzadas de becerros destetados precozmente la información sensorial también se desvanece y el estrés puede ser reducido (Lay *et al.*, 1998).

La concentración de cortisol disminuye a medida que el período posparto transcurre y se cree que su secreción no depende del amamantamiento (Stevenson *et al.*, 1994), ni de la estimulación de la ubre, pues la sola presencia del becerro incrementa el cortisol en vacas con ubre intacta (Hoffman *et al.*, 1996) o mastectomizadas (Stevenson *et al.*, 1994), debido a que el cortisol disminuye la secreción de LH, se ha sugerido que esta hormona participa en la inhibición de la secreción de LH durante el período posparto en vacas con becerro. Tilbrook *et al.*

(2000), mencionan que cuando se tiene un estrés crónico, éste resulta en la supresión de la secreción de gonadotropinas y por lo tanto en la inhibición de la reproducción, pero cuando el estrés es agudo los efectos son más variables, por ejemplo en roedores, se han encontrado efectos inhibidores, estimuladores o simplemente que no hay efectos en la reproducción. En general, diferentes estresores pueden estimular diferentes sistemas, algunos de forma estimuladora y otros de forma inhibitoria con respecto a la reproducción. Sin embargo, algunos autores como Yavas y Walton (2000^a) han concluido que la modulación negativa de LH por el amamantamiento no es regulada por el cortisol.

El estrés puede afectar la síntesis o secreción de gonadotropinas a través de mecanismos que modifican la síntesis o la secreción de GnRH, la sensibilidad de los gonadotropos para responder al GnRH o a las acciones de retroalimentación de las hormonas gonadales (Tilbrook *et al.*, 2000).

Por décadas se asumió que los esteroides trabajaban únicamente a través de cambios en la expresión de los genes para ejercer su acción fisiológica, un proceso que normalmente toma varias horas en ocurrir. Sin embargo, investigaciones a partir de 1940 muestran que el efecto de los esteroides parecido a los gases ocurre en pocos minutos. La respuesta a un esteroide que ocurre en segundos o minutos no es mediada por el genoma (Borski, 2000). Tancin *et al.* (2001) mencionan, que el estrés producido en la separación del becerro inmediatamente en el posparto, no es influenciado por los niveles de cortisol en sangre. Aunque el estrés emocional si incrementa las concentraciones séricas de β -endorfinas/ β -lipotropin y los niveles de cortisol.

En los 50's Selye mencionó que una respuesta al estrés, es una serie de respuestas fisiológicas y conductuales que ayudan a restablecer la "homeostasis" (Nelson, 2000). De ahí podría ser la importancia de los esteroides no geonómicos

ya que su acción puede ser mejor mostrada en los organismos, por la rápida respuesta en su conducta (Borski, 2000).

Los glucocorticoides pueden también modular rápidamente la actividad neuronal central como el sistema nervioso periférico. El cortisol hiperpolariza el potencial de la membrana e inhibe las descargas eléctricas ganglionares en 2 minutos en el cerdo, lo cual no es claro pero puede ocurrir a través de cambios postsinápticos en el K⁺ (Borski, 2000).

La administración de corticosterona en concentraciones mínimas en plasma de roedores produce estrés, que incrementa la actividad locomotriz en un lapso de 15 min de la aplicación (Borski, 2000). En ganado lechero se ha visto que al remover al becerro en el posparto la actividad conductual de las vacas al inicio de la ordeña es más alta en vocalizaciones y observaciones a la cría (Tancin *et al.*, 2001).

Sin embargo Lay *et al.* (1998) consideran que el estrés es multifactorial y que no es clara la privación materna como causa de estrés, ya que este efecto puede ser idéntico al ocasionado por el manejo del ganado. El manejo es un componente esencial en el procedimiento de restringir la crianza, y ha sido demostrado que la manipulación por humanos en animales neonatales tiene un efecto subsecuente en la reacción al estrés. En animales experimentales que son destetados desde el nacimiento como las ratas y ratones, se ha observado que el estrés durante la infancia muestra una disminución en la conducta emocional y/o incrementan la habilidad de sobrellevar situaciones de estrés en la madurez.

Nelson (2000), menciona que en un experimento de Selye en 1936 realizado con ratas después de 2 meses de estar expuestas a bajas temperaturas, las ratas perdedoras "adquirían resistencia" a las bajas temperaturas y morían. Llamando posteriormente a este proceso, Síndrome General de Adaptación (GAS) el cual consiste en tres etapas 1) reacción de alarma 2) resistencia o habituación y 3)

agotamiento, creyendo que esta última es la que termina con la respuesta al estrés e inicia las patologías del estrés que en un caso extremo llevan a la muerte.

Los efectos patológicos del estrés crónico involucran procesos cardiovasculares, metabólicos, reproductivos, digestivos, inmunes y anabólicos, en donde se pueden encontrar pérdidas irreversibles de células del músculo del corazón, así como la inhibición de la función reproductiva por altas concentraciones de glucocorticoides entre otras cosas (Sapolsky, 1992).

2.4 Destete

Como definición de destete se entiende que es la técnica artificial basada en el control del amamantamiento para inducir la presentación estral o mejorar el estado fisiológico de la vaca, y consiste en la separación anticipada del ternero de su madre respecto al destete tradicional. Bavera (2000); menciona que la razón principal del destete en ganado *Bos indicus* es interrumpir la lactancia, evitando o reduciendo al máximo los efectos perniciosos de escasez alimenticia sobre la fertilidad de la vaca.

Se ha demostrado que el uso de destetes parciales de forma temporal pueden llegar a reducir los días de inactividad ovárica. Estas prácticas reducen significativamente los días abiertos de las hembras, mejorando con ello los parámetros reproductivos generales de la explotación debido a que el amamantamiento inhibe la secreción de los pulsos de LH (Galina y Arthur, 1989).

Son varios los regímenes de manejo lactacional como técnicas desarrolladas con la finalidad de reducir el período posparto. Entre ellos, el destete precoz (48-72 horas de nacida la cría) y el destete temporal (por 48-72 horas a partir de los 30 días posparto) (Galina y Arthur, 1989; Bavera, 2000; Galina *et al.*, 2001). En el campo, un procedimiento común es aplicar un destete precoz (7 días) y varias

combinaciones de destete temporal y parcial. El procedimiento más común es 1) restringir el amamantamiento (RS) una o dos veces al día, o por la noche, 2) destete parcial por 24, 48, 72 o 96 horas, 3) retrasar el amamantamiento por 6 a 8 horas después de la ordeña; 4) destetar a los 3-5 meses. Sin embargo, se requiere una infraestructura comprometedoras en esta intervención incluso al hacer la separación del becerro de su madre por 24 a 96 horas como un método popular (Galina *et al.*, 2001).

En un estudio realizado por Fanning *et al.* (1995), encontraron que el separar al becerro de su madre por 48 horas iniciando cuando se remueve el implante de norgestomet, aumenta la tasa de gestación comparado con 48 horas de separación del becerro o solo aplicar Syncro-Mate-B (SMB). Como lo mencionan Salfen *et al.* (2001), quienes observaron que por si solo cualquiera de estos métodos, no siempre dan buenos resultados, no encontrando diferencias ($p > 0.05$) en el porcentaje de vacas que ovulaban en respuesta al destete del becerro y las vacas que permanecían con el becerro; pero sí, con aquellas vacas que eran destetadas precozmente y sincronizadas con una solución de 1mg de BE (17 β -estradiol 3-benzoato; 1,3,5 estrationa-3, 17 β -diol) + 200 mg de P₄ (en 10 ml de aceite de Sigma, St. Louis MO), encontrando mayores porcentajes en las vacas que ovulaban.

Sin embargo, la separación del becerro de su madre, puede alterar su conducta, así como la producción de leche y los niveles de cortisol o catecolaminas (Tancin *et al.*, 2001).

El cambio psicológico del becerro es importante en la afección de su resistencia a ciertas enfermedades. El amamantamiento natural permite la absorción inmunológica, significativamente grande de lactoglobulinas. En becerros criados con un régimen de amamantamiento parcial se reduce la morbilidad y mortalidad (Galina *et al.*, 2001).

Galina *et al.* (2001), mencionan que cuando las vacas y los becerros son separados al primer mes posparto, la información sensorial es condicionada por el becerro (brama y camina a un costado del cercado), y puede causar que las vacas lleguen a estar excitadas y nerviosas. Sin embargo, Hopster *et al.* (1995) y Lay *et al.* (1998), señalan que cuando el becerro es removido en edades avanzadas, la información sensorial se desvanece y el estrés puede ser reducido. La liberación de hormonas adrenales en respuesta al estrés durante la infancia modifican al cerebro y estas modificaciones sugieren que causan diferencias en la conducta emocional de estos individuos en la madurez (Lay *et al.*, 1998).

2.5 Involución Uterina

Después del parto las vacas tienen limitada su capacidad de concebir por un tiempo variable. Su duración depende de la involución uterina, el anestro posparto, y los cuerpos lúteos de vida media corta. La involución uterina tiene una duración promedio de 25 a 32 días, e involucra; 1) pérdida de tejido, 2) reparación de tejido y 3) contracciones musculares peristálticas (Toribio *et al.*, 1995; Yavas y Walton, 2000^a).

Las concentraciones circulantes de oxitocina y $\text{PGF}_{2\alpha}$ incrementan durante el período posparto (Jenkin, 1992). La estimulación táctil del área inguinal de la vaca por el becerro durante el amamantamiento (Stevenson *et al.*, 1994), en adición a la estimulación táctil de las tetas *per se* induce la liberación de oxitocina. La oxitocina induce la "eyección de la leche" y estimula la liberación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ del endometrio uterino. Las concentraciones de $\text{PGF}_{2\alpha}$ declinan gradualmente a concentraciones basales pocas semanas después del parto. La involución es dependiente de la magnitud y duración en la liberación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Yavas y Walton, 2000^a).

La gestación temprana está asociada con el desarrollo folicular. Sin embargo, la gestación tardía se caracteriza por reducida actividad ovárica (Rhind *et al.*, 1992; Yavas y Walton, 2000^a).

El posparto es seguido por una reanudación temprana en la liberación de FSH y posteriormente en el desarrollo folicular. Sin embargo, los folículos en el posparto son similares a los folículos anovulatorios en vacas que están ciclando, en términos de concentraciones de progesterona, 17 β -estradiol, androstenediona y testosterona en líquido folicular, receptores a LH en las células de la teca, y receptores a LH y FSH en células de la granulosa (Rhind *et al.*, 1992).

Yavas y Walton (2000^a) mencionan que generalmente, la primera ovulación posparto ocurre en el ovario contralateral al cuerno uterino previamente grávido, lo cual ha sido atribuido a la temprana involución del cuerno uterino no grávido, o la supresión del desarrollo folicular en el ovario por la presencia del CL de la previa gestación.

2.6 Oleadas Foliculares

Los cambios hormonales que ocurren durante el ciclo estral regulan cambios en la morfología y función de las estructuras del ovario (folículos y cuerpo luteo) y también del conducto genital (oviducto, cuernos uterinos, cérvix y vagina). Un ciclo estral normal en bovinos dura en promedio 21 días con rango entre 18 y 24 días y un intervalo en conducta estral entre 18 y 20 horas, ocurriendo la ovulación de 10 a 12 horas después de haber cesado el estro (cerca de 30 horas después de iniciada la conducta estral) (Rathbone *et al.*, 1998; Rathbone *et al.*, 2001). Los elementos celulares de la teca interna y la granulosa son luteinizados por la LH y desarrollan la capacidad de secretar progesterona formando el cuerpo luteo, caracterizando a este período como metaestro. Para el día 4 del ciclo estral (considerando al estro como día 0), las concentraciones plasmáticas de progesterona son cerca de 1ng/ml y van incrementando, encontrando altas

concentraciones plasmáticas de progesterona (6 a 10 ng/ml) en el diestro. El proestro inicia cuando las concentraciones plasmáticas de progesterona descienden precipitadamente a menos de 1ng/ml como consecuencia de la lúteolisis, caracterizando al proestro por la maduración de un folículo dominante en un ovario (Rathbone *et al.*, 1998).

Durante el período posparto se presenta desarrollo folicular similar al que se observa durante un ciclo estral normal pero ningún folículo llega a desarrollarse lo suficiente para ovular, ya que se carece del estímulo apropiado de LH (Salfen, 2001; Toribio *et al.*, 1995). Este desarrollo folicular comienza desde la primera semana posparto y obedece a la secreción de FSH que ocurre dentro de los primeros 3 a 5 días después del parto, en donde se puede encontrar un folículo medio (7 mm) en el día 4 posparto que alcanzará el tamaño ovulatorio para el día 8 justo antes del incremento en la progesterona. El folículo que no ovula sufre atresia y aparece otro folículo en el día 8 que alcanzará su tamaño máximo en el día 15 (13 mm) (Toribio *et al.*, 1995). En las vacas lecheras el primer folículo dominante que se desarrolla durante las primeras 2 ó 3 semanas ovula, siempre y cuando el factor nutricional no sea limitante, mientras que en las vacas que amamantan la primera ovulación ocurre después del día 50 (Yavas y Walton, 2000^a).

El desarrollo folicular se ha clasificado en dos etapas; 1) Etapa basal, que comprende el crecimiento del folículo hasta 4 mm de diámetro y es independiente de las gonadotropinas; 2) Etapa tónica abarca el crecimiento del folículo a partir de 4 mm de diámetro hasta que se convierte en preovulatorio. Esta última etapa se presenta en forma de oleadas constituidas por períodos de reclutamiento, selección y dominancia folicular. Durante el ciclo estral de la vaca se presentan entre 2 y 3 oleadas foliculares (Hernández, 2002; Gallegos-Sánchez *et al.*, 2004).

Cada oleada folicular comienza cuando un grupo de 3 a 6 folículos antrales (≥ 4 mm diámetro) son estimulados a continuar su desarrollo (reclutamiento), posteriormente se produce la selección, durante la cual un folículo continúa creciendo (folículo dominante), mientras que sus compañeros (subordinados) sufren atresia. El folículo seleccionado se convierte en dominante mediante la inhibición directa o indirecta de la diferenciación y crecimiento de sus compañeros. Si el folículo dominante no llega a ovular después de cierto tiempo de ejercer la dominancia sufre atresia, y se inicia una nueva oleada de desarrollo folicular (Hernández, 2002; Meza, 2003; Gallegos-Sánchez *et al.*, 2004). Las "oleadas foliculares" comienzan alrededor de los días 2, 9 y 16 del ciclo estral en vaquillas con tres oleadas; y los días 2 y 11 en vaquillas con dos oleadas, no habiendo diferencia fundamental entre ciclos de dos o tres oleadas (Gallegos-Sánchez *et al.*, 2004). El folículo seleccionado se encuentra altamente irrigado y produce grandes cantidades de estradiol, mientras que los folículos atrésicos pierden su capacidad aromatizante, por lo que producen menos estradiol incrementando las concentraciones de progesterona y androstenediona en el líquido folicular (Hernández, 2002; Meza, 2003).

Las concentraciones de 17β -estradiol secretadas en el desarrollo folicular, incrementan después del día 9 posparto con fluctuaciones debidas al crecimiento y regresión del folículo dominante. El incremento en la circulación de concentraciones de 17β -estradiol son correlacionadas positivamente con las concentraciones circulantes de LH en ganado *Bos taurus* y con GnRH en ganado *Bos indicus*. La primera ovulación incrementa la secreción de estrógenos de un folículo dominante, induce el efecto de retroalimentación positiva en la liberación de LH, seguida por una oleada preovulatoria de LH, ovulación y reinicio de los ciclos ovulatorios (Yavas y Walton, 2000^a).

Los pulsos de FSH se desarrollan cerca del día 4 posparto y permanecen constantes de allí en adelante con fluctuaciones equivalentes a los ciclos en las

vacas. Cada oleada folicular en el posparto es asociada con un incremento en las concentraciones de FSH en la circulación. Los pulsos de FSH vienen sincronizados con los de LH en el tiempo de la oleada preovulatoria (Crowe *et al.*, 1998).

Las concentraciones de LH en circulación durante el posparto son bajas justo hasta la primera oleada preovulatoria de LH y ovulación. Las bajas concentraciones de LH en circulación son el resultado de la baja frecuencia (0.8 a 2.3/6h) de pulsos de LH. La liberación de pulsos de LH en ganado bovino se recupera entre el día 25 a 32 posparto (Yavas y Walton, 2000^a).

En ganado *Bos taurus*, los folículos medios (5 a 10 mm de diámetro) son detectables el día 5 posparto o entre el día 7 y 15 posparto. El primer folículo dominante ovulatorio que se desarrolla en el posparto es entre el día 15 y 27 posparto en la mayoría de las vacas *Bos taurus*. En vacas *Bos indicus*, los folículos medios están presentes por el día 5 y 7 posparto y el número y medida incrementa, con el tiempo posparto.

Los folículos dominantes son detectables por el día 10 a 21 posparto. Sin embargo, la mayoría de estos folículos no llegan a la ovulación (Crowe *et al.*, 1993; Crowe *et al.*, 1998; Hernández, 2002; Meza, 2003), lo cual indica que en el posparto el folículo dominante anovulatorio sufre atresia antes de que alcance la medida óptima para la ovulación (Yavas y Walton, 2000^a).

Bergfeld *et al.* (1996) señalan, que el recuperar la liberación pulsátil de gonadotropinas al término del período posparto en las vacas es similar a lo que se observa en la pubertad y lo que se observa en la temporada reproductiva durante el período de anestro y la estación reproductiva. Se incrementa la frecuencia de pulsos de LH precedente de la oleada preovulatoria de LH y la ovulación en el ciclo de las vacas.

Las concentraciones de GnRH y sus receptores en la pituitaria anterior permanecen constantes o incrementan entre el día 10 a 15 posparto. Las concentraciones de 17 β -estradiol en la pituitaria anterior y sus receptores también incrementan en el día 15 posparto comparado con lo que se observa antes de la oleada preovulatoria de LH en el ciclo de las vacas (Nett *et al.*, 1988). Sin embargo, Yavas y Walton (2000^b), mencionan que el aplicar GnRH exógeno induce una oleada de LH y la ovulación en vacas productoras de carne en el posparto. Para ellos, estos hallazgos indican que la sensibilidad de la pituitaria anterior a GnRH y 17 β -estradiol no limitan la reanudación de pulsos de LH. Por su parte, Nett *et al.* (1988) sugieren que la depleción en el almacén de LH en la pituitaria anterior es el factor primario que limita la reanudación en los pulsos de LH y la ciclicidad ovárica en el período posparto temprano. El generador de pulsos GnRH, es un oscilador neural en el núcleo arcuato que permanece sensible al efecto de retroalimentación negativa del 17 β -estradiol secretado a partir del desarrollo folicular. Este efecto de retroalimentación negativa del 17 β -estradiol es modulado por la percepción inguinal del becerro durante el amamantamiento, vía endógena por péptidos opioides liberados en el cerebro (Yavas y Walton, 2000^b). Bergfeld *et al.* (1996) mencionan, que la administración de progesterona y 17 β -estradiol combinadas resultan en concentraciones más bajas de LH en circulación que la administración sola de una u otra hormona, lo cual indica que el 17 β -estradiol modula la secreción de LH durante la fase lútea del ciclo estral de bovinos.

2.7 Inducción a la Sincronización

Desde la década de los cuarentas Christian y Casida, observaron que aplicaciones diarias de progesterona suprimían el estro y la ovulación en vaquillas durante el tiempo de su administración, observando también que los animales mostraban estro 5 a 6 días después de suprimir el tratamiento, teniendo ciclos estrales de duración normal (Porrás y Galina, 1992). Así, los primeros tratamientos estaban basados en progesterona exógena o progestágenos sintéticos en los que se

controlaba la liberación del fármaco por uno de los dos sistemas desarrollados, administración subcutánea o intravaginal (Rathbone *et al.*, 2001).

En la actualidad, se cuenta básicamente con dos métodos para controlar ó sincronizar el ciclo estral del bovino y tienen como principio 1) Retrasar la presentación del estro por medio de progesterona (P_4) o progestágenos sintéticos, los cuales imitan la función del cuerpo lúteo, o 2) Acelerar el inicio del estro causando la regresión prematura del cuerpo lúteo, utilizando agentes luteolíticos como la $PGF_{2\alpha}$ o sus análogos sintéticos (Peters, 1986; Porras y Galina, 1992). Sin embargo, Rathbone *et al.* (2001) mencionan que existen varios protocolos de sincronización utilizando $PGF_{2\alpha}$, considerando que el tiempo para que el folículo dominante se desarrolle en el ovario y ovule no es regulado por la $PGF_{2\alpha}$ y el efecto de ésta a su vez, es dependiente de la etapa del ciclo estral en la cual la $PGF_{2\alpha}$ es administrada. Permitiendo con cualquiera de los protocolos utilizados, la sincronización del estro y la ovulación como métodos efectivos en los que los animales podrían ser inseminados en un tiempo predeterminado después de la detección del estro. Incluso, para lograr un mejor grado de inducción, sincronización y fertilidad de las hembras tratadas (Rathbone *et al.*, 1998; Rathbone *et al.*, 2001).

Desde la década de los 70's, se ha combinado el uso de un implante con el de sistemas de lactancia controlada, destete precoz y destete temporal con resultados satisfactorios (Quesada *et al.*, 2001), como lo mencionan Santos *et al.* (1979^b) en un experimento realizado con tres grupos de sincronización + lactancia controlada con diferentes intervalos de tiempo *versus* no sincronización + lactancia controlada, en donde el 42.6% del total de animales sincronizados presentaron celo en los primeros tres días con un 16.7% de animales gestantes, mientras en el lote no sincronizado sólo hubo una incidencia de calores de 1.9%, sin ninguna

hembra gestante, concluyendo que al terminar los 45 días de empadre se habían gestado el 25.9% de los animales del lote sincronizado y 7.4% del lote no tratado.

2.7.1 Acciones de la progesterona

Los principales objetivos de la progesterona son en el tracto reproductivo y el eje hipotalámico-hipofisiario. En general, la progesterona es una hormona esteroide producida en el cuerpo lúteo en los ovarios de los mamíferos y es considerada una hormona progestacional, por lo que una de sus principales actividades es la de preparar al tracto reproductivo para la iniciación y mantenimiento de la gestación (Meza, 2003; Rathbone *et al.*, 2001).

El ciclo estral de la vaca también está controlado por la secreción de progesterona del cuerpo lúteo, la cual empieza a ser detectada en sangre a los 5 días después de la ovulación (Rathbone *et al.*, 2001). Sin embargo, no es el único factor, Wettemann *et al.* (1972) encontraron cambios en la hormona luteinizante y FSH en la pituitaria durante el ciclo estral de bovinos. Bergfeld *et al.* (1996) y Rathbone *et al.* (2001), mencionan que la concentración de LH es constante durante la primera semana después de la ovulación, y que durante la fase lútea temprana las concentraciones de progesterona son bajas, la frecuencia de pulsos de LH es alta y la concentración circulante de estradiol es más alta que durante la mitad de la fase lútea. Por otra parte, se ha reportado lo contrario en la mitad de la fase lútea (altas concentraciones de progesterona, baja frecuencia en pulsos de LH y baja concentración de estradiol), comparadas con una fase lútea temprana y una fase lútea tardía en donde el útero produce y libera $\text{PGF}_{2\alpha}$ en respuesta a un incremento en la concentración de progesterona (Toribio *et al.*, 1995).

Labhsetwar *et al.* (1964) y Crowe *et al.* (1998) encontraron que en la gestación tardía, el hipotálamo-pituitaria se encontraban bajo el efecto de la retroalimentación negativa de la placenta y esteroides ováricos (estrógenos y

progesterona). Estos esteroides suprimen la liberación de FSH en la pituitaria anterior, agotando el almacén de LH en la pituitaria anterior y provocando la supresión de la actividad ovárica folicular. Por lo que, la prolongada aciclicidad posparto se atribuye a la supresión parcial del eje hipotálamo-pituitaria-ovario (Yavas y Walton, 2000^b).

En las primeras 3-4 semanas posparto las vacas recuperan la funcionalidad total de su eje reproductivo (hipotálamo-hipófisis-gónadas-útero), lo cual implica; 1) que se llenen los depósitos de LH en hipófisis; 2) se realice la involución uterina y el reinicio del crecimiento folicular (Gallegos-Sánchez *et al.*, 2004).

En la regresión del cuerpo lúteo en el posparto, las concentraciones de progesterona disminuyen severamente en la circulación indicando ausencia de una ovulación y de un cuerpo lúteo funcional, de ahí la importancia de poder controlar en forma exógena la regresión del cuerpo lúteo en el ganado bovino, ya que señala la posibilidad de sincronizar la aparición del estro, inducirlo, controlarlo y que la vaca presente su primera ovulación posparto mediante la utilización de compuestos hormonales (González-Padilla y Ruiz, 1975; Santos *et al.*, 1979^a).

Yavas y Walton (2000^a) concluyen que en bovinos de tipo europeo la utilización de progesterona exógena a partir de la tercera semana posparto puede inducir la ovulación sin necesidad de manipular a la cría. Sin embargo, Galina (2004) menciona que el estado ovárico (si los animales están ciclando antes del tratamiento hormonal), influye directamente en el resultado del tratamiento sincronizador. Considerando como la principal ventaja de los sistemas sincronizadores basados en progesterona o en progestágenos sintéticos que al aplicarse en hembras anéstricas y posteriormente ser retirados, se favorece la liberación de gonadotropinas, y los animales comienzan a ciclar. Este efecto ha sido probado tanto en vaquillas prepúberes como en vacas en anestro lactacional (Porrás y Galina, 1992).

Porras y Galina (1992), Hernández (2002) y Meza (2003); señalan que la progesterona y los progestágenos sintéticos suprimen el estro y la ovulación actuando a través de un mecanismo de retroalimentación negativa sobre la liberación de hormona luteinizante (LH), reduciendo la frecuencia de los pulsos de esta hormona e impidiendo que algún folículo complete su desarrollo y ovule. Por estas situaciones, una sincronización efectiva del ciclo estral, estará basada en la regulación inducida de la vida funcional del cuerpo lúteo, la cual puede lograrse por varios procedimientos como el uso de progesterona o progestágenos por períodos cortos combinada con estrógenos ó progesterona por períodos cortos más prostaglandina al finalizar el tratamiento como agente luteolítico, lo que impedirá que algún folículo complete su desarrollo y ovule, ya que al ser retirado el fármaco los folículos de todas las vacas tratadas completarán su desarrollo sincrónicamente (Porras y Galina, 1992). Salfen *et al.* (2001), mencionan que regímenes hormonales de 1 mg de benzoato de estradiol + 200 mg de progesterona pueden ser un método efectivo de sincronización de las oleadas foliculares para usarse en otros protocolos de sincronización de estro y ovulación.

Los progestágenos constituyen un grupo de hormonas esteroides que se caracterizan por ser liposolubles, termoestables y que además no se inactivan por vía digestiva, lo que nos permite administrarlos por vía oral, a través de la mucosa vaginal o en implantes subcutáneos de liberación prolongada. Dentro de este grupo de hormonas se encuentra la progesterona, la cual es un progestágeno natural, y los progestágenos sintéticos como el acetato de melengestrol (MGA), Acetato de fluorogestona (FGA) y Norgestomet (Hernández, 2002).

2.7.2 MGA (acetato de melengestrol)

Es un progestágeno oral que ha sido usado en ganado de abasto con sistemas de alimentación para suprimir la conducta estral, pero también ha resultado en una reducción en la fertilidad, si la progesterona no se administra rigurosamente cinco

días antes del consumo de MGA. La solución efectiva para prevenir la baja fertilidad con tratamientos crónicos basados en progesterona fue mostrar la verdadera inducción de la atresia en folículos dominantes persistentes los cuales son formados en ovarios con una luteolisis espontánea del CL presente durante el período del tratamiento. Se ha mostrado que la baja fertilidad es asociada con desarrollo anormal del embrión después de la fertilización y antes de la formación del blastocisto (Rathbone *et al.*, 1998).

Al igual, Salfen *et al.* (2001) mencionan, que cuando se observa un folículo persistente durante el consumo de acetato de melengestrol y se desea promover el inicio de una nueva oleada folicular, una sola inyección de 200 mg de P₄ puede causar regresión de ese folículo.

2.7.3 Norgestomet

Durante más de 25 años un potente progestageno sintético SC21009 mostró que suprimía el estro y la ovulación cuando era administrado diariamente por vía intramuscular en dosis de 0.14 mg por vaca. Sin embargo, el uso de norgestomet seguida de inseminación artificial se asoció con una reducción en la fertilidad después de la sincronización del estro (Rathbone *et al.*, 2001). Tratamientos por 9 días con norgestomet, administrados subcutáneamente en un polímero como implante en la oreja, con una inyección de valerato de estradiol no reducía la fertilidad dando buenos resultados (Santos *et al.*, 1979^a; Rathbone *et al.*, 2001). Sin embargo, al ser administrado durante los primeros 4 días del ciclo estral, inhibía el desarrollo del cuerpo lúteo en las vacas (Rathbone *et al.*, 2001).

Con base en los resultados de estos experimentos, el protocolo de sincronización con norgestomet ha sido modificado, en un implante en la oreja que contiene de 3 a 6 mg de norgestomet implantado por 9 días y combinado con una inyección intramuscular de 3 mg de norgestomet y 5 mg de valerato de estradiol

administrado en el tiempo de la inserción del implante. Este sistema ha sido llamado Syncro-Mate-B (Porras y Galina, 1992; Fanning *et al.*, 1995; Rathbone *et al.*, 2001), se creó que el tratamiento altera la liberación de gonadotropinas y que al ser removida la fuente exógena del progestágeno, el animal responde con desarrollo folicular, estro y ovulación en un período de 2 a 5 días. Este sistema ha sido utilizado para sincronizar el estro y la ovulación en novillas y en vacas *Bos indicus* lactando (Fanning *et al.*, 1995), dando como resultado altos porcentajes de sincronización, pero promedios variables de concepción (Larson y Kiracofe, 1995).

Rathbone *et al.* (2001), mencionan que el tratamiento con Syncro-Mate-B, mantiene bajas las concentraciones plasmáticas de progesterona durante el período del tratamiento y permanecen así hasta 3 días después de remover el implante. Las concentraciones medias de FSH en plasma son suprimidas por el norgestomet durante el período del tratamiento. Sin embargo, es marcado el incremento de esta hormona dentro de las 48 h después de remover el implante. La concentración media de LH es similar a la de FSH, disminuye durante el período del tratamiento y después incrementa la concentración a un pico de 30-48 h después de remover el implante.

Se creó que la habilidad del Syncro-Mate-B para inducir la conducta estral, es independiente de la función ovárica que puede contribuir a la variabilidad en el promedio de concepción después de su uso, ya que el pico de LH después del tratamiento con Syncro-Mate-B podría ser independiente de los ovarios y puede ó no ser seguido de la ovulación (Larson y Kiracofe, 1995; Rathbone *et al.*, 2001).

Bolaños *et al.* (1997) encontraron que el tratamiento con Syncro-Mate-B (SMB) fue capaz de incrementar el porcentaje de vacas posparto que mostraban conducta estral si el becerro era separado o no de la vaca por 48 h, pero el 50% de las vacas tratadas eran incapaz de tener un buen éxito en su ciclicidad. Quesada *et al.* (2001) encontraron que el 8% de las vacas no implantadas mostraron signos de estro mientras que en los grupos tratados con SMB, los porcentajes fueron del

50% en el grupo de vacas que tuvo la presencia del becerro, el 48% para el grupo que estuvo separado de la cría con contacto visual a través de una barrera y el 40% en el grupo de vacas que fue totalmente removido de sus crías.

2.7.4 PRID

Después de exitosos estudios en donde se demostró que dispositivos vaginales de silicón impregnados con progestágenos sintéticos podían suprimir el pico de LH y la ovulación a la mitad del ciclo en mujeres, se desarrolló un dispositivo de inserción intravaginal llamado PRID capaz de liberar progesterona. El cual, consistía en un espiral de acero inoxidable cubierto en silicón, impregnado uniformemente con varias cantidades de progesterona (1.55 ó 2.25 g) la cual era absorbida por la mucosa vaginal y pasaba a la circulación sistémica desde la primera hora de aplicación alcanzando niveles superiores a 1 ng/ml similares a los presentes durante la fase lutea del ciclo estral. Al extremo del espiral era atado un cordón de nylon para removerlo fácilmente (Porras y Galina 1992; Rathbone *et al.*, 1998; Rathbone *et al.*, 2001).

Rathbone *et al.* (2001), mencionan que 7 días del tratamiento con PRID seguidos por la inyección de un análogo de $\text{PGF}_{2\alpha}$ al remover el PRID, daban buenos resultados en la sincronización del estro en vacas y novillas de carne, pero los porcentajes de concepción eran más bajos que en los animales del grupo testigo. Sin embargo, cuando el tratamiento con PRID era utilizado por 7 días con una inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$ 24 h antes de remover el PRID resultaban altos porcentajes de sincronización del estro y fertilidad.

2.7.5 CIDR-B

A partir de 1985, se cuenta con otra alternativa para la regulación de los ciclos estrales del ganado bovino que consiste en un dispositivo de aplicación intravaginal, el cual contiene 1.9 g de progesterona natural de liberación

prolongada, y una cápsula con 10 mg de benzoato de estradiol (BE), impregnada en un molde de silicón con forma de "T" conocida como CIDR-B. A partir de los primeros experimentos se encontró que este método tenía ciertas ventajas con respecto a otros dispositivos vaginales para uso en vacas, entre las ventajas que se vieron fue su alto nivel de retención con un 98.8% en períodos de 4-12 días, además de su fácil aplicación y retiro (MacMillan *et al.*, 1987; Rathbone *et al.*, 1998; Díaz *et al.*, 2002). Los fármacos sincronizadores de liberación intravaginal en vacas más comúnmente usados son, la matriz de silicón PRID ó el CIDR-B (Rathbone *et al.*, 2001).

Se debe de considerar que la regresión del cuerpo lúteo ocurre alrededor del día 18 del ciclo estral, por lo que al retirar un tratamiento con progestágenos con duración menor a 12 días, algunas vacas aún tendrán un cuerpo lúteo que interfiera con la respuesta. Por esta razón los tratamiento cortos deben ser acompañados con la administración de un agente luteolítico (estrógenos o prostaglandinas) que se aplica al inicio o al final del tratamiento con el progestágeno, lo que nos permitirá un buen control del estro y mejores índices de concepción a los logrados con tratamientos largos de 18 a 21 días (Porrás y Galina, 1992).

Así, al utilizar implantes con progestágenos en vacas anéstricas, se obtienen resultados óptimos de sincronización y de fertilidad. Sin embargo, cuando dichos progestágenos se han usado en animales con cría al pie, los resultados dejan mucho que desear (Santos *et al.*, 1979^a).

III. JUSTIFICACIÓN

En el trópico de México la producción de carne de bovino es una de las principales actividades pecuarias, por lo que un pronto restablecimiento de la actividad ovárica normal después del parto así como la producción de crías con el menor estrés, son de gran importancia como características indispensables para maximizar la eficiencia reproductiva y lograr una mayor producción de crías en la industria de la carne.

IV. HIPÓTESIS

- El destete por 72 horas con contacto sensorial madre-cría tendrá menores vocalizaciones, micciones, defecaciones en las crías, así como menores concentraciones de cortisol sérico en madres y crías que el destete por 72 horas sin contacto.
- Las vacas que tienen contacto sensorial con sus becerros presentarán una mejor respuesta a la sincronización y reinicio de la actividad ovárica.

V. OBJETIVOS

- Evaluar el efecto de la interrupción del vínculo madre-cría bajo dos sistemas:
 - a) Cuando el becerro es destetado temporalmente de su madre con contacto sensorial entre ellos por 72 horas.
 - b) Cuando el becerro es destetado temporalmente de su madre por 72 horas sin contacto sensorial.

- Determinar el reinicio de la actividad ovárica y sincronización de la ovulación utilizando CIDR-B en vacas con destete temporal por 72 horas con y sin contacto sensorial madre-cría.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS.

6.1 Localización

El experimento se realizó en el Módulo de Producción de Vaquillas F1 "La Soledad" del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), ubicado en el km 3.5 del camino vecinal Martínez de la Torre-Novara, Municipio de Atzalán, Veracruz a 20° 4' latitud Norte y a 97° 3' longitud Oeste; con una altitud de 151 metros sobre el nivel del mar, una precipitación pluvial anual de 1508.9 mm y una temperatura media anual de 24° C. La clasificación climática corresponde al tipo Af (m) (e) cálido húmedo con lluvias todo el año (García, 1981).

6.2 Período experimental

Las vacas utilizadas tuvieron sus pariciones en primavera (de marzo a mayo). Se empezó a trabajar con las vacas y sus becerros a partir de los 45 a los 60 días posparto.

6.3 Descripción de los animales

Se utilizó un total de 40 vacas multíparas tipo Cebú con sus crías. Al inicio del experimento las vacas tenían una condición corporal y un peso promedio de 2.8 ± 0.08 en escala 1 a 5 (Edmonson *et al.*, 1989) y 468.82 ± 9.05 kg respectivamente.

6.4 Diseño del experimento.

Los animales se asignaron a uno de dos tratamientos conforme se iban presentando las pariciones. 1) Destete temporal por 72 horas con contacto sensorial madre-cría (Tx1) y 2) Destete temporal por 72 horas sin contacto sensorial madre-cría (Tx2).

Tx1:

En este tratamiento se utilizaron 20 vacas con sus crías y se aplicó un destete temporal con contacto sensorial, en donde madre y cría permanecían separados parcialmente por 72 horas mediante una barrera tubular en un corral contiguo, a través del cual podían mantener contacto visual, auditivo, olfativo y táctil.

Tx2:

Al igual que en el tratamiento anterior, en éste se utilizaron 20 vacas con sus crías. Se aplicó un destete temporal sin ningún tipo de contacto, en donde los animales de este grupo permanecieron separados totalmente (madre – cría) por 72 horas. Para este tratamiento las crías fueron trasladadas a un corral ubicado a 1 km de distancia de las madres.

6.4.1 Muestreos en vacas y becerros

Todos los muestreos en vacas y becerros se tomaron a partir de las 7:00 a.m. como se observa en la Figura 1.

6.4.2 Muestreo en vacas

Evaluación ultrasonográfica

En todas las vacas se realizaron 3 muestreos ultrasonográficos (US) con la finalidad de caracterizar los cambios en las estructuras ováricas antes del tratamiento y durante la fase que permaneció *in situ* el dispositivo intravaginal. El primer muestreo se realizó 5 días antes de colocar el CIDR-B (día -5), el segundo muestreo cuando las vacas fueron inducidas a la sincronización (colocación del CIDR-B) y el tercer muestreo el día que fue retirado el CIDR-B (9 días después de la inserción). Se utilizó un ultrasonido portátil de tiempo real, insertándose el transductor por vía rectal y colocándose a lo largo de la superficie dorsal del cuerno del útero, realizándose movimientos laterales para examinar los ovarios.

Inseminación artificial

Todas las vacas fueron servidas a través de inseminación artificial (IA) a tiempo fijo a las 48 horas de retirado el CIDR-B.

Determinación de progesterona

Para evaluar la actividad ovárica antes del tratamiento y en respuesta al tratamiento, se obtuvieron muestras de sangre de todas las vacas 5 días antes de colocar el CIDR-B y a los 3, 9 y 15 días de retirado el CIDR-B. Las muestras de sangre se tomaron de la vena coccígea mediante tubos vacutainer estériles sin anticoagulante, y fueron centrifugadas a 1500 rpm durante 15 minutos, inmediatamente después del sangrado. El suero se mantuvo en congelación a -20°C para su posterior análisis de progesterona (P4) (Pulido *et al.* (1991), en el laboratorio de Endocrinología del Departamento de Reproducción (FMVZ-UNAM),

mediante kits comerciales con la técnica de radioinmunoanálisis en fase sólida (RIA).

Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación (DG) se realizó en el día experimental 33 (22 días después de la Inseminación Artificial) mediante un estudio ultrasonográfico vía rectal.

Destete Temporal

Todos los becerros fueron separados de sus madres (DT) al momento del retiro del dispositivo vaginal por un lapso de 72 h y al término de este período regresaron a su manejo tradicional.

Determinación de cortisol

Para analizar esta variable se tomó una muestra representativa al azar de 10 vacas por cada tratamiento.

Con la finalidad de detectar el efecto de la separación de la cría en las madres, se tomaron muestras de sangre un día antes de la separación madre-cría (día -1) (un día antes del retiro del CIDR-B), el día de la separación (día 0); 24 h después de la separación (día 1); 48 h después de la separación (día 2); 72 h después de la separación (día 3) día en que los becerros regresan con la vaca y 96 h después de la separación (día 4) que corresponde al día que los becerros se reencontraban con su madre en ambos tratamientos; para su posterior análisis sérico de cortisol, bajo el mismo procedimiento descrito anteriormente en la progesterona.

6.4.3 Muestreo en becerros

Para analizar estas variables se muestrearon los becerros de las vacas anteriormente citadas por cada tratamiento.

Como muestreo fisiológico: se tomó frecuencia cardiaca (fc), frecuencia respiratoria (fr) y temperatura rectal (temp). Como muestreo sérico: se realizó la determinación sérica de cortisol en becerros (cort-be) y la determinación sérica de cortisol en vacas (cort-va). Y como muestreo conductual: se realizaron observaciones (muestreos conductuales directos), registrando el número de vocalizaciones, micciones y defecaciones, a partir de un día antes de la separación madre-cría (día -1) durante el mismo período mencionado en el muestreo sérico para la determinación de cortisol de las vacas.

Constantes fisiológicas

Todos los becerros fueron examinados durante los seis días experimentales, registrándose sus constantes fisiológicas: frecuencia cardiaca (fc), frecuencia respiratoria (fr) y temperatura rectal (temp) durante un minuto, al mismo tiempo en un mismo becerro con el fin de evitar estrés en los becerros.

- La Frecuencia cardiaca: Se tomó mediante un estetoscopio, del costado izquierdo del becerro, contando las pulsaciones durante un minuto.
- La Frecuencia respiratoria: Se colocó la mano derecha ligeramente sobre el belfo del becerro y contándose las exhalaciones por minuto.
- La Temperatura rectal: Fue tomada mediante un termómetro digital introducido en el recto por 1 minuto.

Determinación de cortisol

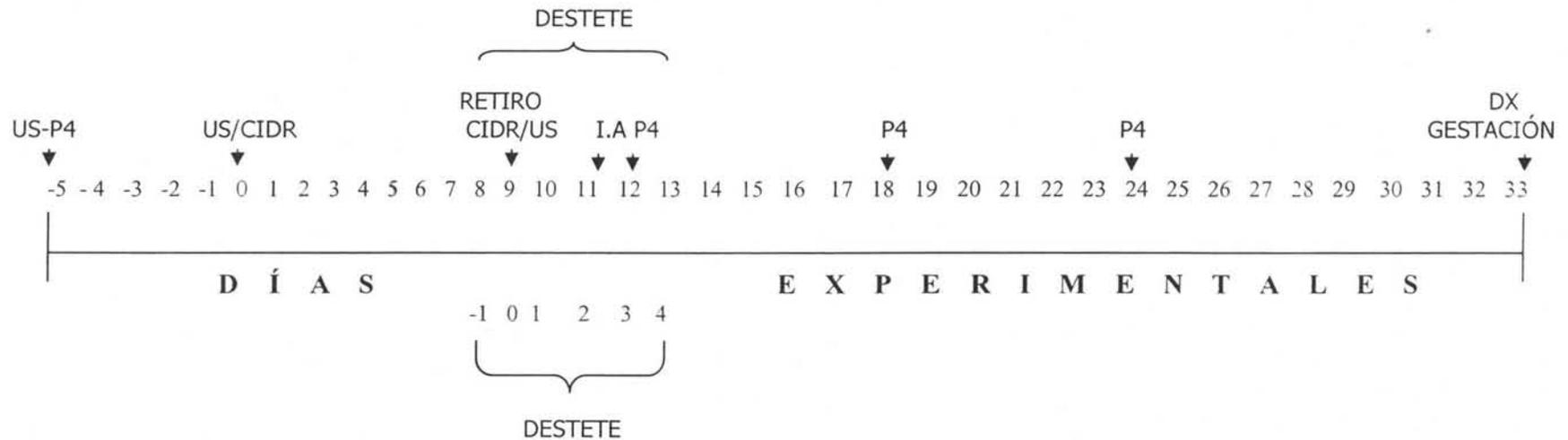
Para apoyar los resultados obtenidos en las constantes fisiológicas se obtuvieron muestras de sangre de los becerros para su posterior análisis de cortisol sérico (cort-be), con la finalidad de detectar el efecto del tratamiento. Las muestras de sangre se tomaron de la vena yugular mediante tubos vacutainer estériles sin anticoagulante fueron centrifugadas inmediatamente después del sangrado para su separación sérica (Jephcott *et al.*, 1986). El suero se mantuvo en congelación a –20°C para su posterior análisis de cortisol en el laboratorio de Endocrinología del Departamento de Reproducción (FMVZ-UNAM), mediante kits comerciales con la técnica de radioinmunoanálisis (RIA)

Muestreo conductual

Para evaluar el comportamiento de los becerros, se realizaron muestreos conductuales directos, dos veces al día en dos períodos de una hora continua cada uno, siendo el primero de 12:00 a 13:00 h y el segundo de las 18:00 a 19:00 h en los mismos días, con la finalidad de registrar el número de vocalizaciones, micciones y defecaciones por becerro por tratamiento.

- Vocalizaciones: Considerado como un evento, cada mugido emitido por becerro (frecuencia).
- Micciones: Considerado como el número de veces que cada becerro orinaba.
- Defecaciones: Considerado como el número de veces que cada becerro excreta.

VACAS {
 US: MUESTREO ULTRASONOGRÁFICO
 P4 : MUESTREO SÉRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE PROGESTERONA
 COLOCACIÓN DEL CIDR
 RETIRO CIDR
 DT: DESTETE TEMPORAL (MUESTREO SÉRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE CORTISOL)
 I.A: INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO A LAS 48 H DE RETIRADO EL CIDR
 DG: DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN



BE CERROS {
 DESTETE: MUESTREO FISIOLÓGICO
 MUESTREO SÉRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE CORTISOL
 MUESTREO CONDUCTUAL

Figura 1: Esquema reproductivo y de bienestar del sistema de destete parcial (72 horas) con y sin contacto sensorial madre-cría.

6.5 Alimentación y manejo

Las vacas del Tx1 y Tx2, se mantuvieron pastoreando *ad libitum* en un potrero con gramas nativas, *Brachiaria*, *Paspalum spp* y *Cynodon*. Los becerros fueron suplementados con un alimento elaborado en el rancho con subproductos de la región (melaza, bagacillo de caña, cáscara de naranja y sales minerales), que contenía 14-16 % PC. Suministrando el agua para beber *ad libitum*.

6.6 Variables evaluadas

Como variables reproductivas en las vacas se evaluó el diámetro de los folículos (realizado mediante el examen ultrasonográfico) 5 días antes de aplicar CIDR-B, el día de aplicación del CIDR-B y el día de retiro del mismo, así como los resultados de la concentración de progesterona en suero para la determinación del porcentaje de animales que reinician actividad ovarica y el porcentaje de animales diagnosticados gestantes 22 días después de la Inseminación Artificial, por medio de ultrasonografía rectal.

Como variables fisiológicas: En los becerros se evaluó, frecuencia cardiaca (fc), frecuencia respiratoria (fr), temperatura rectal (temp).

Como variables séricas: Se evaluó la concentración sérica de cortisol en becerros (cort-be) y determinación de cortisol sérica en vacas (cort-va).

Como variables conductuales: Se cuantificó las vocalizaciones, micciones y defecaciones de los becerros tanto en **Tx1** (Destete temporal por 72 horas con contacto sensorial), como en **Tx2** (Destete temporal por 72 horas sin contacto) para su evaluación.

6.7 Diseño estadístico

Como análisis estadístico de las variables (frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura rectal, cortisol sérico en becerros, y cortisol sérico en vacas) con el fin de comparar entre los días de muestreo de un mismo tratamiento, se utilizó un diseño para medidas repetidas, haciendo la comparación entre tratamientos con un análisis de varianza mediante el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System).

En el caso del número de vocalizaciones, se calculó la frecuencia de vocalizaciones por hora:

$$\text{frecuencia de vocalizaciones} = \frac{\text{(Número de veces que se presenta el evento)}}{\text{Total de tiempo muestreado}}$$

(Martín y Bateson, 1993).

La comparación de vocalizaciones, micciones y defecaciones a través del tiempo por tratamiento se realizó mediante la prueba de J_i^2 con un $\alpha=0.05$

Para el análisis del porcentaje de animales ciclando al inicio del tratamiento, aquellos que respondían a la sincronización y aquellas que quedaban preñadas, se hizo una comparación mediante una prueba de proporciones, en donde los porcentajes finales entre tratamientos fueron analizadas por medio de una prueba de J_i^2 con un $\alpha= 0.05$

VII. RESULTADOS

Evaluación Ultrasonográfica

En el cuadro 1 se observa la relación que existió en la clasificación del tamaño folicular entre las vacas tratadas con destete temporal por 72 h con contacto sensorial madre-cría y las vacas tratadas con destete temporal por 72 h sin contacto sensorial madre-cría, encontrándose diferencia estadística entre tratamientos ($p < 0.05$) en los folículos $< 5\text{mm}$, cinco días antes de colocar el CIDR-B, pero no en los folículos $> 6\text{ mm}$ y $< 9\text{mm}$. Se confirmó la presencia de bajos porcentajes de folículos $> 10\text{mm}$ en las vacas de ambos tratamientos, correspondiendo un 5% a Tx1 y 37% a Tx2 ($p < 0.05$) en el día que se colocó el CIDR-B.

El porcentaje de cuerpos lúteos al momento de colocar el CIDR-B fue de 7.5% y 22.5% ($p < 0.05$) para Tx1 y Tx2, respectivamente. Sin embargo al retiro del CIDR-B se encontró un 15% de cuerpos luteos ($P > 0.05$) en las vacas de ambos tratamientos.

Concentraciones séricas de progesterona en respuesta al CIDR-B

En la concentración de progesterona en suero tomado cinco días antes de colocar el CIDR-B (cuadro 2), se encontró que las vacas tratadas con destete temporal por 72 h con contacto sensorial madre-cría y las vacas tratadas con destete temporal por 72 h sin contacto sensorial madre-cría, se encontraban bajo la misma condición ovárica con un 10 y 15% ($p > 0.05$).

Así mismo, puede observarse que la respuesta ovulatoria a los 12 días después de la inducción a la sincronización (a los tres días de retirado el CIDR-B) en las vacas tratadas con destete temporal por 72 h con contacto sensorial madre-cría y en las vacas tratadas con destete temporal por 72 h sin contacto sensorial madre-cría,

fue de un 10% ($p>0.05$) en ambos tratamientos. En el día dieciocho (nueve días después de retirado el CIDR-B) fue de un 30% en ambos tratamientos y hasta el día 24 (a los quince días de retirado el CIDR-B), pudo observarse al 75 y 85% de las vacas de Tx1 y Tx2 respectivamente, con actividad ovárica.

Diagnóstico de gestación

Al analizar los resultados de gestaciones por medio de ultrasonografía rectal, encontramos que el total de estas fue de 25% (5/20) en las vacas tratadas con destete temporal por 72 h con contacto sensorial madre-cría y 30% (6/20) en las vacas tratadas con destete temporal por 72 h sin contacto sensorial madre-cría, no mostrando diferencia estadística ($p>0.05$) entre tratamientos.

Determinación de cortisol sérico en vacas en respuesta a la separación de la cría.

El cuadro 3 resume los resultados de las vacas en la concentración sérica de cortisol a través del tiempo de cada uno de los tratamientos, en donde puede observarse que en Tx1, el día 1 y 2 son estadísticamente diferentes con los días -1, 3 y 4, no observándose diferencias en Tx2.

En la Figura 2 puede observarse la tendencia de ambos tratamientos, en donde se marca una curva a través del tiempo entre el día -1 (Tx1; 16.76 ± 4.02 vs Tx2; 18.18 ± 6.11) el día 2 (Tx1; 37.67 ± 5.49 vs Tx2; 36.34 ± 10.19) y el día 4 (Tx1; 19.62 ± 4.59 vs Tx2; 31.11 ± 7.73), no encontrándose diferencias estadísticas ($p>0.05$) entre tratamientos como lo muestra el Cuadro 3.

Constantes fisiológicas en respuesta a la separación madre-cría.

El cuadro 4 resume la comparación de las constantes fisiológicas (frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura rectal) entre los becerros tratados

en Tx1 y los becerros tratados en Tx2, indicando que los valores más altos durante los seis días de muestreo se encontraron en Tx1 ($p < 0.05$) con respecto a Tx2.

Al analizar los resultados en frecuencia cardiaca obtenidos por variable a través del tiempo, se observa que los animales en Tx1 mostraron los valores más altos durante los 6 días experimentales, encontrándose diferencias ($p < 0.05$) el día de la separación del becerro de su madre (día 0) con los días 1, 2 y 3, pero no con el día 4 ($p > 0.05$).

En los animales de Tx2 se observan resultados similares al tratamiento anterior encontrándose que el día de la separación madre-cría (día 0) es diferente ($p < 0.05$) con los días 1, 2 y 3 pero no con el día 4 (cuadro 5).

Al comparar el efecto de la frecuencia cardiaca entre los animales tratados en Tx1 y Tx2 se encontró que en los animales tratados con destete temporal por 72 h sin contacto sensorial madre-cría, este efecto es significativo ($p < 0.05$) en los días -1, 2, 3, y 4 lo cual puede apreciarse en ambos tratamientos en la Figura 3.

En cuanto a frecuencia respiratoria en el cuadro 6, los animales en Tx1 muestran diferencia estadística ($p < 0.05$) a través del tiempo, el día de la separación madre cría (día 0) con los días -1 y 3. Así mismo, los animales de Tx2 muestran la misma respuesta el día 0 con respecto al día 2 ($p < 0.05$). En la Figura 4, se aprecian mejor las tendencias del tiempo a través de un mismo tratamiento para esta variable.

Al comparar las tendencias de los tratamientos (destete temporal por 72 h con contacto sensorial madre-cría y destete temporal por 72 h sin contacto sensorial madre-cría) en la frecuencia respiratoria, encontramos que este efecto es significativo en los días 0, 1, 2, y 4 entre tratamientos.

En la temperatura rectal (cuadro 7), coinciden las tendencias a través del tiempo obtenidas anteriormente en frecuencia cardiaca y frecuencia respiratoria en los

animales de Tx1 observándose, que el valor más alto se encuentra el día de la separación madre-cría, ($p < 0.05$) con respecto a los días que los becerros estaban con la vaca (días -1 y 4). No se encontraron diferencias ($p > 0.05$) a través del tiempo en los animales tratados en Tx2 para esta variable.

Así mismo, al hacer la comparación entre tratamientos se encontró que la temperatura rectal es significativa ($p < 0.05$) en los días -1, 1, 2, 3, y 4 como lo muestran la tendencia de la Figura 5.

Determinación de cortisol sérico en becerros en respuesta a la separación de la madre.

En el cuadro 8, se encontró que la concentración de cortisol sérico en los becerros con destete temporal por 72 h con contacto sensorial madre-cría, es diferente ($p < 0.05$) a través del tiempo en el día 0 (correspondiente al día que se lleva a cabo la separación) con respecto al día -1 y 4, días en que los becerros se encuentran con la vaca, mientras que en los becerros con destete temporal por 72 h sin contacto sensorial madre-cría no se encontró ($p > 0.05$) un efecto del tratamiento a través del tiempo en la concentración sérica de cortisol.

En la figura 6 se observan las tendencias de los resultados en la concentración sérica de cortisol en los becerros de ambos tratamientos, en donde se encontró diferencias ($p < 0.05$) entre tratamientos en el día que se lleva a cabo la separación de la madre (día 0) y a las 24 horas después de la separación (día 1).

Muestreo conductual en becerros

El cuadro 9 resume el comportamiento conductual de las vocalizaciones de ambos tratamientos, e indica que los becerros con destete temporal por 72 h con contacto sensorial madre-cría (Tx1) tuvieron una conducta progresiva en vocalizaciones a través del tiempo. A partir del día de la separación, se observó que el mayor número de eventos fue 48 h después de la separación (día 2) con una frecuencia de 66.5 vocalizaciones por día, encontrándose diferencias ($p < 0.05$) los días -1, 0, 3 y 4. Sin embargo, en los becerros con destete temporal por 72 h sin contacto sensorial madre-cría (Tx2), el mayor número de eventos se observa 24 h después de la separación con una frecuencia de 29.58 vocalizaciones por día, comportándose diferente ($p < 0.05$) con los días -1, 3 y 4.

Al hacer la comparación entre el número de eventos de los becerros con destete temporal por 72 h con contacto sensorial madre-cría y los becerros con destete temporal por 72 h sin contacto sensorial madre-cría, encontramos que estos tratamientos se comportan igual un día antes de la separación madre-cría (-1) y 24 horas después de reunirse (día 4). Pero no, en el día 1, 2, 3 ($p < 0.05$) observándose el efecto que tuvo la separación del becerro de su madre.

En el número de micciones (Cuadro 10) y defecaciones (Cuadro 11) no se encontraron diferencias ($p > 0.05$) a través del tiempo ni entre tratamientos.

VIII. DISCUSION

Evaluación Ultrasonográfica

El número de folículos reclutados es usualmente mayor que el número de folículos ovulatorios, esto se hace evidente en los folículos <5 mm encontrados en los tres días de muestreo ultrasonográfico (cinco días antes de colocar el CIDR-B, día que se colocó el CIDR-B, y el día del retiro de CIDR-B) encontrándose porcentajes arriba del 90% (18/20) en ambos tratamientos en los tres días de muestreo. Sin embargo, como lo mencionan Salfen *et al.* (2001) estos folículos van perdiendo su capacidad ovulatoria durante su fase estática y/o de regresión de la oleada folicular, lo cual podemos ver en los folículos encontrados de un diámetro >6 mm y <9 mm observándose que solo un número determinado de folículos crecen mayores a 5 mm, sin existir diferencias entre tratamientos en los tres diferentes muestreos.

De acuerdo a Salfen *et al.* (2001) la respuesta ovulatoria varía, lo cual confirmamos por examen ultrasonográfico el día del retiro del CIDR-B en el bajo porcentaje de folículos que median >10 mm entre las vacas de Tx1 (12.5%) y Tx2 (32.5%). Aunque en cada animal sólo uno de los folículos alcanzará el tamaño ovulatorio inhibiendo el crecimiento y diferenciación de los demás folículos subordinados, hay una serie de eventos fisiológicos que involucran el eje hipotálamo-hipofisiario, que conectan el cerebro y el ovario que se requieren para que se induzca el estro, la ovulación y un subsecuente desarrollo de un cuerpo luteo con éxito (Hansel y Convey, 1983).

Cinco días antes de colocar el CIDR-B; el 12.5% de las vacas de Tx1 y el 15% de las vacas de Tx2 tenían un cuerpo lúteo. Sin embargo, para el día que se colocó el CIDR-B, el 7.5% y el 22.5% de las vacas tratadas respectivamente, tenían un cuerpo lúteo mostrando diferencia estadística entre tratamientos ($p < 0.05$). La

respuesta por tratamiento al momento de retirar el CIDR-B fue de un 15%, lo cual de acuerdo a Salfen *et al.* (2001) indica que la sincronización de las oleadas foliculares podría no resultar en un incremento en el porcentaje de vacas que ovulan en respuesta al destete del becerro. Sin embargo, Gaiina (2004) menciona que el estado ovárico de la vaca, que se tiene antes del tratamiento hormonal influye directamente en el resultado del tratamiento sincronizador, considerando como la principal ventaja de los sistemas sincronizadores basados en progesterona o en progestágenos sintéticos que al aplicarse en hembras anéstricas y posteriormente ser retirados, se favorece la liberación de gonadotropinas, y los animales comienzan a ciclar.

Concentraciones Séricas de Progesterona en respuesta al CIDR-B

Stevenson *et al.* (1994) encontraron que las concentraciones de progesterona en 23 de 29 vacas (79%), excedieron una concentración de 1 ng/ml por 2 o más días después de la primera ovulación. En un estudio similar realizado por Fanning *et al.* (1995) fueron considerados en estro, aquellos animales ciclando con una administración previa de SMB si la concentración de Progesterona era mayor a 1 ng/ml en dos muestras de sangre tomadas consecutivamente a la semana. Bajo estas consideraciones encontramos que a los tres días de retirado el CIDR-B, el 10% (2/20) de las vacas de ambos tratamientos mostraron una concentración sérica de progesterona mayor a 1 ng/ml. De acuerdo a Stevenson *et al.* (1994) los días del estro son seguidos de la ovulación si ocurre una subsecuente elevación de progesterona. Si el día de la primera ovulación, no era acompañado por conducta de estro, entonces se estimaba que ésta había ocurrido tres días antes de que la concentración de progesterona excediera 0.5 ng/ml y permaneciera por arriba de las concentraciones mínimas por dos días consecutivos. Este aspecto resulta interesante, particularmente al corroborar la ovulación a los nueve días de retirado el CIDR-B en el 30% (6/20) de las vacas de ambos tratamientos. Díaz *et al.* (2002), mencionan que los bajos porcentajes de ovulación pudieran tener una

posible explicación en que los animales pudieran haber manifestado signos de estro como una respuesta de imitación (Alelolimetría) al haberse formado un grupo sexualmente activo provocado por el mismo tratamiento sincronizador, pues es posible suponer que una cantidad mayor de estradiol pudo favorecer la presencia de celo que no es seguido de ovulación (Lammoglia *et al.*, 1998). En el ganado *Bos indicus* esto resulta particularmente complejo, Orihuela *et al.* (1983) encontraron, un 65% de eficacia en este tipo de ganado, después de 100 horas de observación continua en la detección de estros.

Al día 24 de haber sido inducidas a la sincronización (quinze días de retirado el CIDR-B), se encontró que el 75% (15/20) de las vacas con destete temporal por 72 h con contacto sensorial madre-cría y el 85% (17/20) de las vacas con destete temporal por 72 h sin contacto sensorial madre-cría manifestaron reinicio de la actividad ovárica u ovulación. Este incremento en la tasa de ovulación con respecto al día 12 y 18, de inducida la sincronización podría deberse a la dosis de BE utilizada, ocasionando que los folículos en crecimiento y dominancia se hayan atresiado, resultando en una nueva oleada folicular promovida por una liberación prematura de LH, la cual pudo haber interferido con la sincronía entre el celo y la ovulación (Lammoglia *et al.*, 1998). Otra alternativa podría ser que existió una liberación prematura de LH que provocó una luteinización del folículo dominante, de modo que la ovulación no ocurrió (Lammoglia *et al.*, 1998). Nuestros resultados coinciden con lo señalado por Salfen *et al.* (2001), en que el porcentaje de vacas que ovularon en respuesta al destete del becerro no es diferente ($p > 0.05$) al porcentaje de vacas que permanecieron con el becerro. Sin embargo, Webb (2002) en un experimento similar concluye que aquellas vacas que podían ver a sus crías quedaban gestantes más pronto, en contraste con un experimento realizado por Quesada *et al.* (2001) donde se encontró que las vacas separadas por 48 h sin contacto visual entre madre y cría tenían la mejor respuesta evaluada por el porcentaje de animales que ciclaban después del retiro del progestageno, en

comparación con aquellas vacas que tenían contacto visual a través de una barrera física y aquellas vacas que tenían la presencia del becerro.

Diagnóstico de gestación

Lo limitado de la muestra animal impide tener conclusiones determinantes. Sin embargo, el resultado de gestaciones obtenido por ultrasonografía rectal, nos permite concluir que el porcentaje de concepción encontrando, no fue afectado por el tipo de destete que se aplicó. Díaz *et al.* (2002) mencionan, que el bajo porcentaje de gestación total se relaciona con las condiciones reproductivas previas de las vacas, porcentaje de celo, ovulación y gestación, no encontrándose diferencia estadística ($p > 0.05$) cuando los animales se agruparon por estado ovárico, días posparto, intervalo entre partos y número de parto. Sin embargo, sí existe un efecto significativo de la condición corporal sobre el porcentaje de gestación y puede ser un factor que altere la actividad ovárica posparto para volver a quedar gestantes (Stevenson *et al.*, 1994).

Constantes fisiológicas de los becerros en respuesta a la separación madre-cría

Generalmente el tratamiento de los becerros que mantenían contacto con su madre a través de un corral tubular (Tx1) tuvo los promedios más altos en las constantes fisiológicas (frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura) y cortisol sérico, comparado con los becerros que permanecieron sin contacto materno. Estos resultados coinciden con los de Lay *et al.* (1998) en un estudio realizado de manera similar en el manejo precoz en la restricción materna de becerros.

En los seis días de muestreo tanto en Tx1 como en Tx2 en las variables frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura rectal y concentración sérica de cortisol, se observó el efecto que tuvo la separación del becerro de su madre a

través de un incremento en las variables observadas a partir del retiro de la cría, y el restablecimiento de los niveles previos a la separación, con respecto al día de reencuentro con su madre.

Determinación de cortisol sérico en becerros en respuesta a la separación de la madre

Lay *et al.* (1998) encontraron que los becerros que estaban bajo un sistema de crianza restringida tenían concentraciones más altas de cortisol a los 15 y 20 minutos, que los becerros que estaban en un sistema de crianza *ad libitum*. Las diferencias en la respuesta indican que el eje hipotálamo-pituitaria- adrenal de los becerros con crianza restringida se adaptaron mejor respondiendo a las restricciones de estrés. En un experimento realizado por Acevedo *et al.* (2005), encontraron que el promedio más alto en la concentración sérica de cortisol, se observó 24 h después del tratamiento en becerros con destete temporal. Observándose que este valor disminuye significativamente a los mismos niveles en crianza restringida tanto en el segundo día como en la tercera muestra no encontrándose diferencia ($p > 0.05$) entre tratamientos. Sin embargo, en nuestros resultados se encontraron diferencias ($p < 0.05$) entre tratamientos en las concentraciones séricas de cortisol en el día que se lleva a cabo la separación de la madre (día 0) y a las 24 horas después de la separación (día 1). Observándose que la concentración de cortisol sérico en los becerros de Tx1, se incrementa el día de la separación (día 0), mostrando una conducta activa ante el estrés entre el primer día de muestreo y el último, correspondiendo ambos días a la permanencia del becerro con la madre.

Tancin *et al.* (2001) mencionan, que el estrés producido en la separación del becerro inmediatamente en el posparto, no es influenciado por los niveles de cortisol en sangre, aunque el estrés emocional si incrementa las concentraciones séricas de β -endorfinas/ β -lipotropin y los niveles de cortisol. Esto se observa mejor

en Tx2 en donde los becerros adoptan una conducta pasiva ante el estrés ocasionado por el destete, mostrando una "adaptación" a éste, a las 48 horas de haberse realizado la separación, tanto en las variables de frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura rectal y en la concentración de cortisol en suero, así como en su conducta y estado de ánimo a través del tiempo.

Lay *et al.* (1998) mencionan que si el cortisol y el promedio de la frecuencia cardiaca aumentan, esto indica una disminución en la habilidad de lidiar con el estrés. La privación materna disminuye la habilidad de lidiar con el estrés en respuesta a la restricción en la crianza de becerros, pero puede incrementar en estos, la habilidad de adaptarse al destete.

Los resultados encontrados tanto en Tx1 como en Tx2 en la concentración sérica de cortisol en las vacas coinciden con los resultados encontrados por Stevenson *et al.* (1994) en un estudio realizado con vacas mastectomizadas y vacas con la ubre intacta en donde los grupos que permanecieron con contacto madre-becerro tuvieron concentraciones séricas de cortisol más altas al juntarse madre-cría comparado con el grupo de vacas mastectomizadas que permaneció sin contacto.

Stevenson *et al.* (1994) encontraron que en vacas mastectomizadas con contacto de la cría las concentraciones séricas de cortisol incrementaron durante los siguientes 12 minutos de la reunión madre-cría y disminuía lo que restaba de la hora. Sin embargo, las vacas de nuestros tratamientos muestran un incremento en las concentraciones séricas de cortisol ante el destete, comportándose de igual manera las vacas de ambos tratamientos durante la aplicación del destete, lo cual coincide con un experimento similar realizado por Acevedo *et al.* (2005) con destete temporal y crianza restringida, en donde no se encontró diferencias en las concentraciones séricas de cortisol entre tratamientos. A este respecto, Stevenson *et al.* (1994) mencionan, que el grupo de vacas mastectomizadas sin restricción visual de la cría y las vacas con ubre intacta sin restricción visual de la cría

demonstraron conductas maternas similares durante los eventos del amamantamiento.

Lo anterior podría entenderse como un estado de bienestar, como lo mencionan Stevenson *et al.* (1994), en donde después de separar temporalmente a las vacas de los becerros, la concentración de oxitocina incrementó en las vacas de 2 a 4 minutos después de iniciada la reunión vaca-becerro, considerándose importante en la estimulación táctil de las tetas que involucra la liberación de oxitocina, observándose una mejor respuesta en la ordeña de las vacas que permanecían en ausencia de sus becerros, que en las vacas en ordeña mantenidas con su becerro. Considerando que los nervios sensoriales de la mucosa oral de las vacas son activados cuando el becerro es amamantado, dirigiendo un incremento en la secreción de oxitocina que induce un efecto anti-estrés (Das *et al.*, 1999).

Muestreo conductual en becerros

Fanning *et al.* (1995), observaron que los becerros que eran destetados por 48 horas así como los becerros que eran destetados parcialmente con contacto de la madre perdían peso, mientras que los becerros que permanecían amamantados por la vaca ganaban peso durante las 48 horas correspondientes al período de destete, encontrándose diferencias ($p < 0.01$) con los otros dos tratamientos. Sin embargo, ellos afirman que en el postratamiento los becerros destetados y los becerros parcialmente destetados con contacto de la madre ganan peso, resultando pesos similares entre tratamientos. A este respecto Bell *et al.* (1998), mencionan que la ganancia de peso en becerros amamantados una vez al día no difiere del grupo testigo.

En los resultados conductuales en Tx1 se registraron el mayor número de vocalizaciones a las 48 h de la separación (798 vocalizaciones), ocurriendo este evento en Tx2 a las 24 h de la separación (355 vocalizaciones). Sin embargo, al

analizar la frecuencia de vocalizaciones por día de muestreo, el efecto del tratamiento es más marcado en Tx1, incluso hasta las 72 horas de haber sido retirado el becerro de la vaca. Aunque esta observación no se hizo en las vacas, en ganado lechero se ha visto que al remover el becerro en el posparto, la actividad conductual de las vacas al inicio de la ordeña es más alta en vocalizaciones y observaciones a la cría cuando ésta se usa de apoyo (Tancin *et al.*, 2001), lo que podría indicarnos una alteración también, en el comportamiento de la madre al estar viendo a la cría constantemente.

No se encontró diferencia en el número de micciones ni defecaciones entre tratamientos siendo estos resultados similares a los de Lay *et al.* (1998), en un estudio en donde comparó crianza restringida contra crianza *ad libitum*.

IX. CONCLUSIONES

Las vacas que tienen contacto sensorial por 72 h con sus becerros como las que no lo tienen muestran resultados similares sobre el reinicio de la actividad ovárica y sincronización de la ovulación con CIDR-B, no viéndose afectadas por el destete temporal de los becerros.

En general, tanto Tx1 como Tx2 fueron sometidos a la privación materna parcial o total, así como a la restricción en el consumo de leche y diferente tipo de manejo, encontrando que los becerros que permanecen por 72 h sin contacto sensorial de la madre se "habitan" a esta condición después de 48 horas de efectuarse la separación madre-cría. Concluyendo que la utilización del destete precoz sin contacto sensorial madre-cría presenta mejores parámetros de bienestar en los becerros, que el destete precoz en donde los becerros mantienen contacto sensorial con sus madres.

X. CUADROS

Cuadro 1 .- Porcentaje de animales ciclando al inicio del tratamiento, al momento de la sincronización y en respuesta a la sincronización por medio de examen ultrasonográfico.

Diámetro Folicular	Día -5 d (%)	CIDR (%)	RETIRO CIDR (%)
<5 mm	¹ 92.5 ^a	97.5	95
	² 90 ^b	90	95
>6 – <9mm	¹ 37.5	27.5	47.5
	² 45	40	35
>10 mm	¹ 12.5	5 ^a	12.5
	² 17.5	37.5 ^b	32.5
CL	¹ 12.5	7.5 ^a	15
	² 15	22.5 ^b	15

Día -5; Corresponde al primer día de muestreo, realizado 5 días antes de colocar el CIDR-B en las vacas.
CIDR; Día en que se colocó el CIDR.

RETIRO CIDR; retiro del CIDR a los 9 días.

¹ Tratamiento 1; Destete precoz con contacto visual

² Tratamiento 2; Destete precoz sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría.

<5 mm, >6 – <9mm, >10 mm CL.; Clasificación de los folículos por categorías de acuerdo al diámetro.

a, b; Diferente literal indica ($p < 0.05$) entre tratamientos.

Cuadro 2.- Porcentaje de vacas con concentración de progesterona mayor a 1 ng/ml.

Tratamiento	Días			
	-5	12	18	24
Tx1	10% (2/20)	10% (2/20)	30% (6/20)	75% (15/20)
Tx2	15% (3/20)	10% (2/20)	30% (6/20)	85% (17/20)

Tx1 = Vacas con Destete Temporal con contacto visual madre-cría.

Tx2= Vacas con Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría.

Día -5; Corresponde al primer día de muestreo, realizado 5 días antes de colocar el CIDR-B en las vacas.

Día 12; Correspondiente a 3 días después de retirado el CIDR.

Día 18; Correspondiente a 9 días después de retirado el CIDR.

Día 24; Correspondiente a 15 días después de retirado el CIDR.

Cuadro 3.- Valores promedio (\pm EE) por día de tratamiento de la concentración sérica de cortisol en vacas bajo dos sistemas de destete precoz.

Días	Nmol/ml	
	Tx1	Tx2
-1	16.76 \pm 4.02 ^a	18.18 \pm 6.11
0	27.77 \pm 5.35 ^{ab}	26.87 \pm 7.09
1	36.99 \pm 10.21 ^b	32.12 \pm 9.37
2	37.61 \pm 5.49 ^b	36.34 \pm 10.19
3	16.42 \pm 2.33 ^a	21.10 \pm 5.08
4	19.62 \pm 4.59 ^a	31.11 \pm 7.73

Tx1 = Vacas con Destete Temporal con contacto visual madre-cría ($x \pm$ EE).

Tx2= Vacas con Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría($x \pm$ EE).

a, b; Diferente literal indica ($p < 0.05$) a través del tiempo dentro de un mismo tratamiento.

Cuadro 4.- Estadístico descriptivo por tratamiento de las variables frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura rectal, cortisol becerros y cortisol vacas.

Variable	Tx1	Tx2
fc	117.57 ± 3.66 ^a	98.87 ± 2.58 ^b
fr	50.07 ± 1.34 ^a	37.80 ± 1.43 ^b
temp	39.97 ± 0.07 ^a	39.17 ± 0.18 ^b
cort-be	34.80 ± 2.87 ^a	24.93 ± 2.71 ^b
cort-va	27.62 ± 3.15	25.97 ± 2.59

Tx1 = Destete Temporal con contacto visual madre-cría (x ± EE).

Tx2 = Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría (x ± ee).

fc: frecuencia cardiaca (pulsos/min.)

fr: frecuencia respiratoria (respiraciones/min.)

temp: temperatura rectal (°C).

cort-be: cortisol sérico en becerros (nmol/ml).

cort-va: cortisol sérico vacas (nmol/ml).

a, b; Diferente literal indica (p<0.05) a entre tratamientos.

Cuadro 5.- Valores promedio (\pm EE) por día de tratamiento de la frecuencia cardíaca en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.

Días	Pulsaciones / min.	
	Tx1	Tx2
-1	158 \pm 11.30 ^{a/1}	111.2 \pm 1.30 ^{ab/2}
0	134 \pm 6.42 ^b	119.2 \pm 5.12 ^a
1	100.8 \pm 2.2 ^{b c}	93.6 \pm 6.85 ^{bc}
2	108.4 \pm 1.25 ^{c/1}	91.2 \pm 5.42 ^{bc/2}
3	91.4 \pm 4.04 ^{c/1}	78.4 \pm 5.42 ^{c/2}
4	112.8 \pm 2.13 ^{bc/1}	99.6 \pm 4.96 ^{ab/2}

Tx1 = Destete Temporal con contacto visual madre-cría ($x \pm$ EE).

Tx2 = Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría ($x \pm$ EE)

Frecuencia cardíaca/minuto

a, b, c ; Diferente literal indica ($p < 0.05$) a través del tiempo dentro de un mismo tratamiento.

1,2; Diferente número indica ($p < 0.05$) entre tratamientos.

Cuadro 6.- Valores promedio (\pm EE) por día de tratamiento de la frecuencia respiratoria en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.

Días	Respiraciones / min.	
	Tx1	Tx2
-1	44.8 \pm 2.78 ^b	49.6 \pm 3.58 ^a
0	52.4 \pm 2.10 ^{ab/1}	41.6 \pm 1.80 ^{ab/2}
1	56.0 \pm 6.25 ^{a/1}	42.4 \pm 3.33 ^{ab/2}
2	56.0 \pm 1.68 ^{a/1}	28.4 \pm 1.83 ^{c/2}
3	34.4 \pm 1.59 ^c	31.2 \pm 1.30 ^{bc}
4	56.8 \pm 2.29 ^{a/1}	33.6 \pm 3.43 ^{bc/2}

Tx1 = Destete Temporal con contacto visual madre-cría ($x \pm$ EE).

Tx2 = Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría ($x \pm$ EE) frecuencia respiratoria/minuto.

a, b, c ; Diferente literal indica ($p < 0.05$) a través del tiempo dentro de un mismo tratamiento.

1,2; Diferente número indica ($p < 0.05$) entre tratamientos.

Cuadro 7 .- Valores promedio (\pm EE) por día de tratamiento de la temperatura rectal ($^{\circ}$ C) en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.

Días	$^{\circ}$ C	
	Tx1	Tx2
-1	39.65 \pm 0.10 ^{b/1}	39.24 \pm 0.09 ^{a/2}
0	40.40 \pm 0.12 ^a	40.05 \pm 1.00 ^a
1	39.93 \pm 0.15 ^{ab/1}	38.73 \pm 0.15 ^{a/2}
2	40.11 \pm 0.17 ^{ab/1}	39.01 \pm 0.08 ^{a/2}
3	39.90 \pm 0.16 ^{ab/1}	38.86 \pm 0.14 ^{a/2}
4	39.76 \pm 0.14 ^{b/1}	39.13 \pm 0.09 ^{a/2}

Tratamiento 1 = Destete Temporal con contacto visual madre-cría ($x \pm$ EE).

Tratamiento 2 = Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría ($x \pm$ EE) temperatura rectal en $^{\circ}$ C.

a, b; Diferente literal indica ($p < 0.05$) a través del tiempo dentro de un mismo tratamiento.

1,2; Diferente número indica ($p < 0.05$) entre tratamientos.

Cuadro 8. - Valores promedio (\pm EE) por día de tratamiento de la concentración sérica de cortisol en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.

Días	Nmol / ml.	
	Tx1	Tx2
-1	19.83 \pm 5.82 ^b	33.09 \pm 9.61 ^a
0	54.21 \pm 7.00 ^{a/1}	15.78 \pm 6.14 ^{a/2}
1	34.77 \pm 2.82 ^{ab/1}	18.06 \pm 3.19 ^{a/2}
2	37.43 \pm 8.93 ^{ab}	32.88 \pm 5.29 ^a
3	40.60 \pm 5.91 ^{ab}	26.82 \pm 5.70 ^a
4	21.91 \pm 5.27 ^b	24.48 \pm 7.67 ^a

Tx1 = Destete Temporal con contacto visual madre-cría ($x \pm$ EE).

Tx2 = Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría ($x \pm$ EE).

a, b; Diferente literal indica ($p < 0.05$) a través del tiempo dentro de un mismo tratamiento.

1,2; Diferente número indica ($p < 0.05$) entre tratamientos.

Cuadro 9.- Frecuencia de vocalizaciones por hora por día de tratamiento en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.

	Tx1		Tx2	
Días	frecuencia de eventos**	Suma*	frecuencia de eventos**	Suma*
-1	0.08 ^a	1	0.91 ^a	11
0	44.75 ^{b/1}	537	19.41 ^{b/2}	233
1	53.73 ^{bc/1}	640	29.58 ^{b/2}	355
2	66.50 ^{c/1}	798	24.66 ^{b/2}	296
3	31.41 ^{d/1}	377	1.91 ^{a/2}	23
4	1.5 ^a	18	1.25 ^a	15
Total	--	2371¹	--	933²

Tx1 = Destete Temporal con contacto visual madre-cría.

Tx2 = Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría.

* suma total de vocalizaciones por día de tratamiento.

** Frecuencia de vocalizaciones por día de muestreo durante los 6 días de tratamiento.

a, b, c, d; diferente literal indica ($p < 0.05$) entre los días de un mismo tratamiento.

1,2; Diferente número indica ($p < 0.05$) entre tratamientos.

Cuadro 10.- Número total de micciones por día de tratamiento en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.

Días	Tx1	Tx2
-1	1	1
0	1	13
1	7	4
2	2	3
3	2	1
4	0	0
Total	13	22

Tx1 = Destete Temporal con contacto visual madre-cría.

Tx2 = Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría.

Cuadro 11.- Número total de defecaciones por día de tratamiento en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.

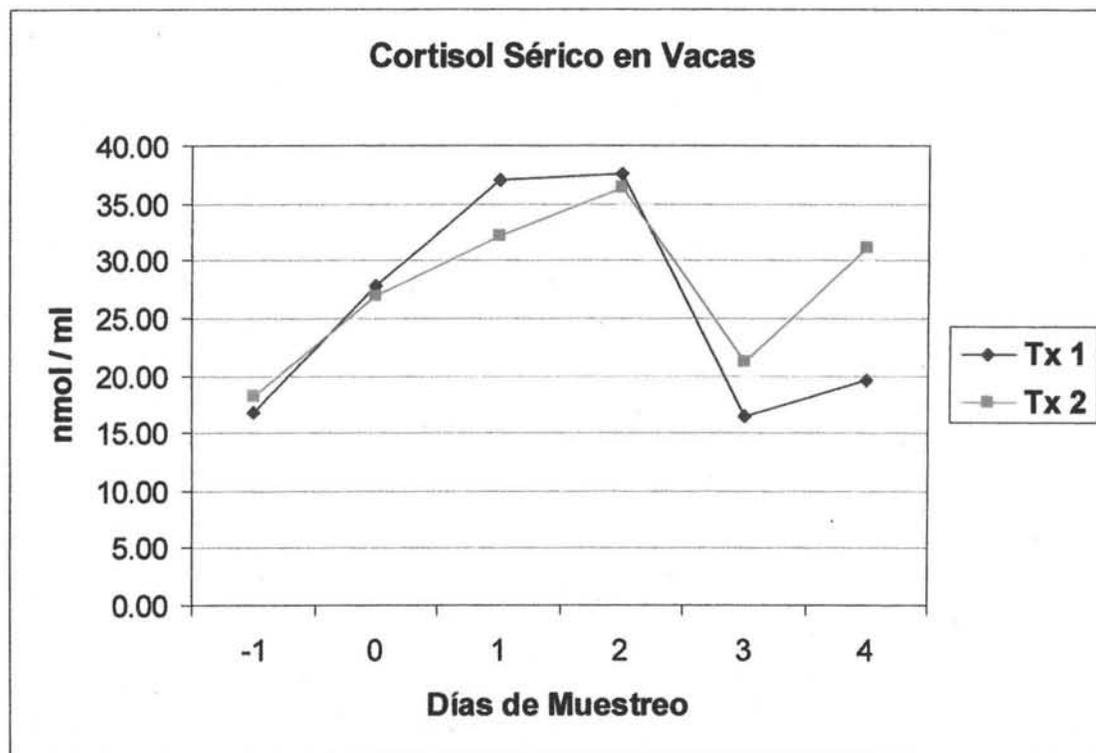
Días	Tx1	Tx2
-1	1	0
0	1	2
1	2	8
2	0	0
3	0	0
4	0	0
Total	4	10

Tratamiento 1 = Destete Temporal con contacto visual madre-cría.

Tratamiento 2 = Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría.

XI. FIGURAS

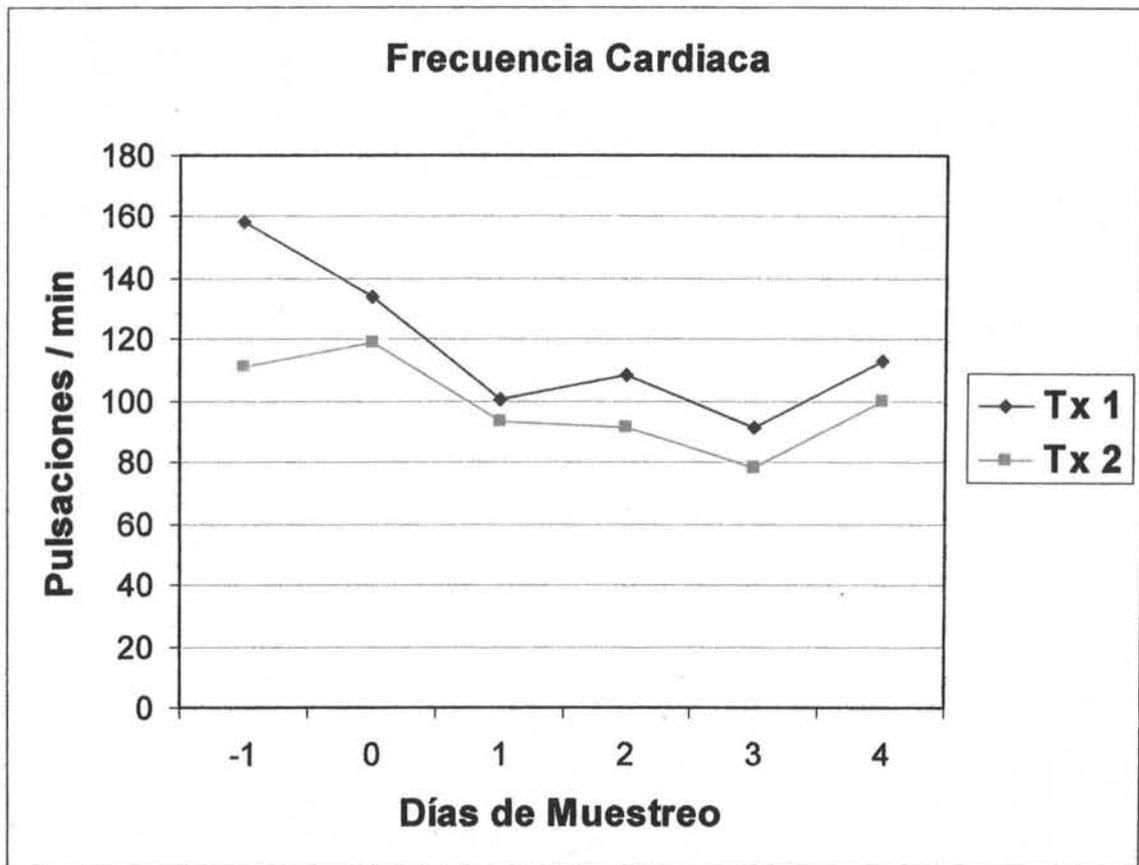
Figura 2: Tendencia de los valores promedio por tratamiento a través del tiempo en el muestreo de las concentraciones séricas de cortisol en vacas bajo dos sistemas de destete precoz.



Tx 1 = Destete Temporal con contacto visual madre-cría.

Tx 2 = Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría.

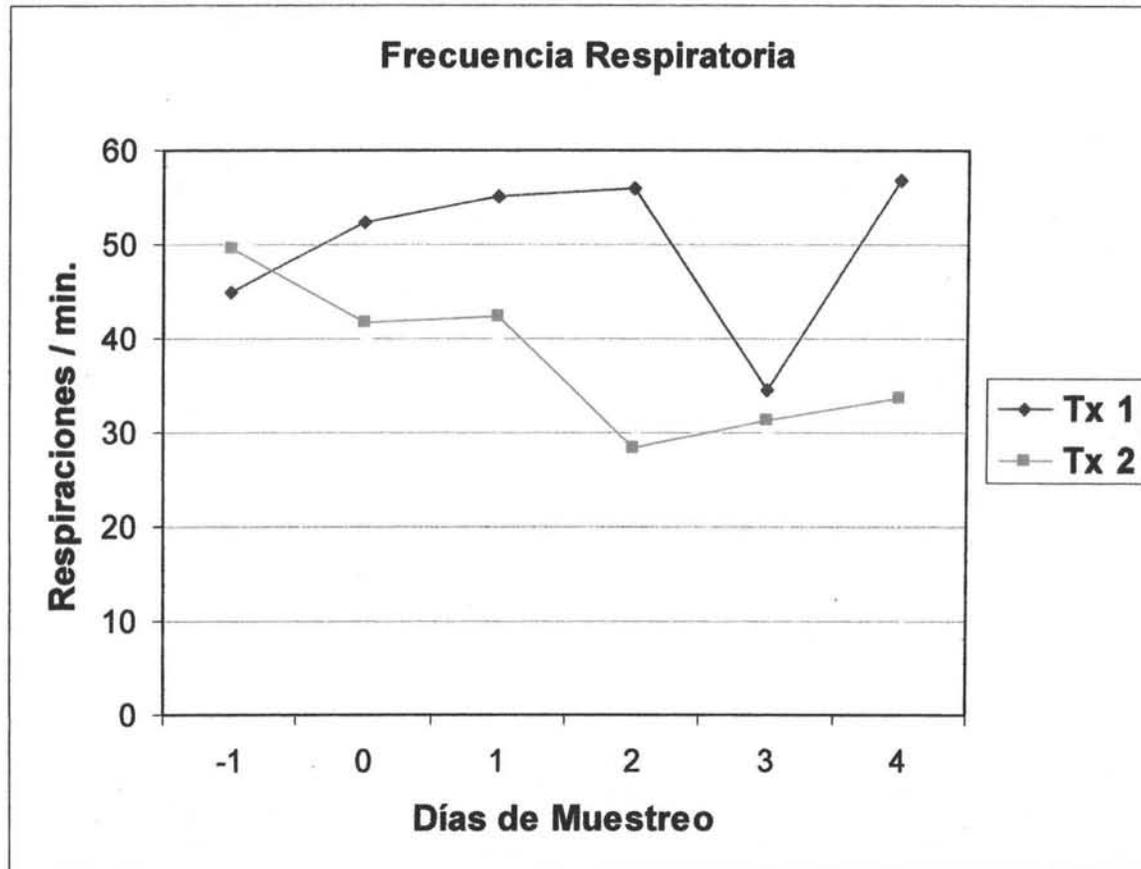
Figura 3: Tendencia de los valores promedio por tratamiento a través del tiempo en el muestreo de la frecuencia cardiaca de becerros bajo dos sistemas de destete precoz.



Tx 1 = Destete Temporal con contacto visual madre-cría.

Tx 2 = Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría.

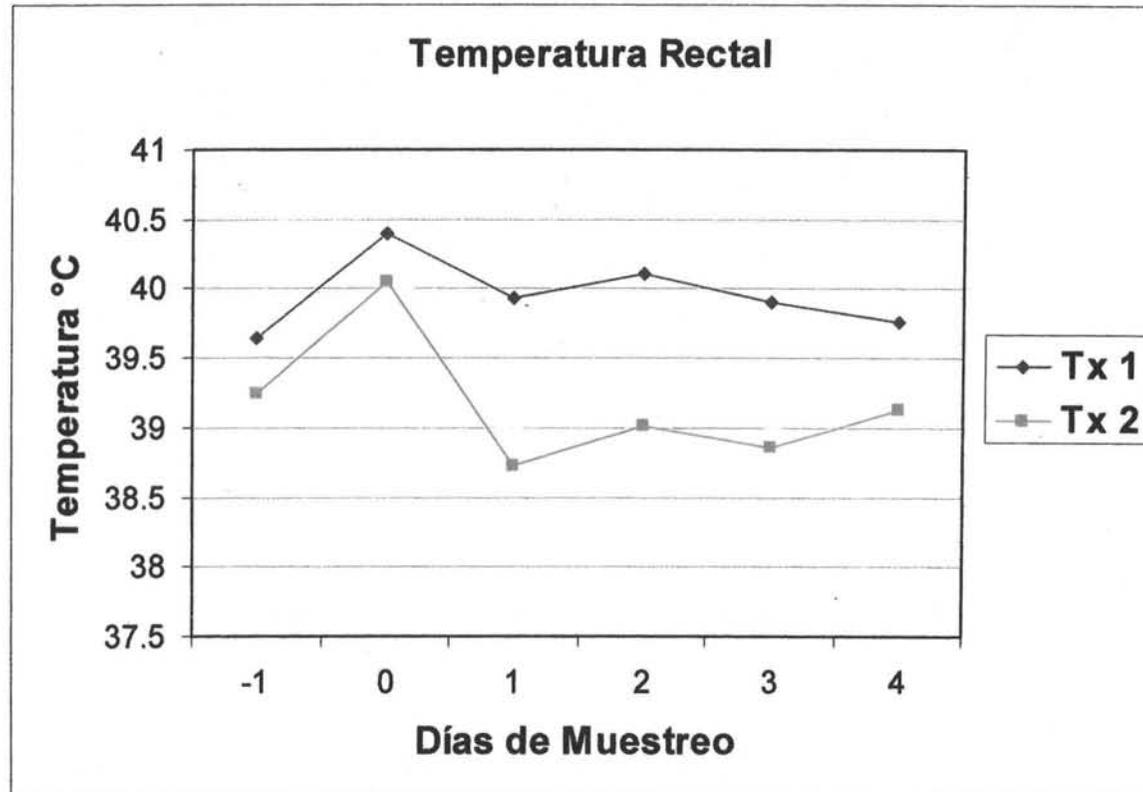
Figura 4: Tendencia de los valores promedio por tratamiento a través del tiempo en el muestreo de la frecuencia respiratoria de becerros bajo dos sistemas de destete precoz.



Tx 1 = Destete Temporal con contacto visual madre-cría.

Tx 2 = Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría.

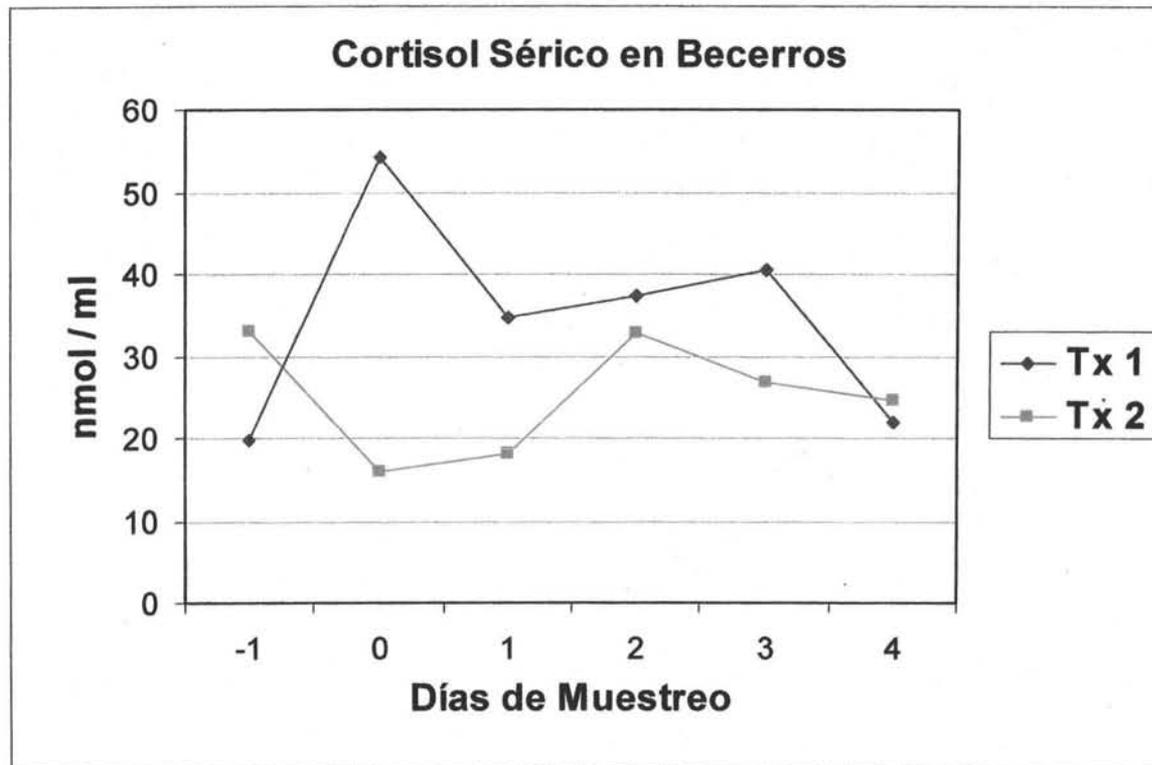
Figura 5: Tendencia de los valores promedio por tratamiento a través del tiempo en el muestreo de la temperatura rectal de becerros bajo dos sistemas de destete precoz.



Tx 1 = Destete Temporal con contacto visual madre-cría.

Tx 2 = Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría.

Figura 6: Tendencia de los valores promedio por tratamiento a través del tiempo en el muestreo de las concentraciones séricas de cortisol en becerros bajo dos sistemas de destete precoz.



Tx 1 = Destete Temporal con contacto visual madre-cría.

Tx 2 = Destete Temporal sin contacto sensorial (auditivo, visual, olfativo, táctil) madre-cría.

LITERATURA CITADA

1. Acevedo N, Hernández C, Orihuela A, Lidfors LM, and Berg C. Effect of restricted suckling or temporal Weaning on some physiological and behavioural stress parameters in zebu cattle. *Australasian Journal of Animal Sciences* 2005; Vol. 18, NO. 7 or NO.8 (Por publicar).
2. Arave CW. Assessing sensory capacity of animals using operant technology. *Journal of Animal Science* 1996;74:1996-2008.
3. Bavera GA. Momento del destete. Curso de producción bovina de carne, cap. IV. FAV UNRC. Cebú pp 6-12.
4. Bergfeld EGM, Kojima FN, Cupp AS, Wehrman ME, Peters KE, Mariscal V, Sanchez T. and Kinder JE. Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17 β -estradiol in bovine females. *Biology of Reproduction* 1996; 54: 546-553.
5. Beal WE, Good GA, Peterson LA. Estrus synchronization and pregnancy rates in cyclic and noncyclic beef cows and heifers treated with Syncro-Mate B or norgestomet and alfaprostol. *Theriogenology* 1984; 22:59-66.
6. Bell DJ, Spitzer JC, Burns GL. Comparative effects of early weaning or once-daily suckling on occurrence of postpartum estrus in primiparous beef cows. *Theriogenology* 1998; 50:707-715.
7. Bellows RA, Short RE, Urick JJ, and Pahnish OF. Effects of early weaning on postpartum reproduction of the dam and growth of calves born as multiple or single. *J Anim Sci* 1974; 39: 589-596.

8. Bolaños JM, Galina CS, Estrada S, Forsberg M. resumption of post-partum ovarian activity monitored by plasma progesterone in anestrous Zebu (*Bos indicus*) cattle following temporary weaning and progestogen treatment. *Reprod Dom Anim.* 1997; 32:267-271.
9. Borski JR. Nongenomic membrane actions of glucocorticoids in vertebrates Elsevier Science TEM 2000; 11 (10): 427-436.
10. Boukhliq RRI, Goodman SJ, Berriman B, Adrian MN, Lehman. A subset of gonadotropin-releasing hormone neurons in the ovine medial basal hypothalamus is activated during increased pulsatile luteinizing hormone secretion. *Endocrinology* 1999; 140: 5929-5936.
11. Browning R, Robert BS, Lewis AW, Neuendorff DA, Randel RD. Effects of postpartum nutrition and once-daily suckling on reproductive efficiency and preweaning calf performance in fall-calving Brahman (*Bos indicus*) cows. *Journal of Animal Science* 1994; 72:984-989.
12. Crowe MA, Goulding D, Baguisi A, Boland MP, Roche JF. Induced ovulation of the first postpartum dominant follicle in beef suckler cows using a GnRH analogue. *J Reprod Fertil* 1993; 99:551-555.
13. Crowe MA, Padmanabhan V, Mihm M, Beitins IZ, Roche JF. Resumption of follicular waves in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite major changes in steroid and luteinizing hormone concentration. *Biol Reprod* 1998; 58: 1445-1450.
14. Das SM, Wiktorsson H, and Forsberg M. Effects on calf management and level of feed supplementation on milk yield and calf growth of Zebu and crossbred cattle in the semi-arid tropics. *Livest. Prod. Sci.* 1999; 59: 67-75.

15. Dawkins MS. From an animal's point of view: Motivation, fitness, and animal welfare. *Behavioral and Brain Sciences* 1990;13: 1 1-61.
16. Diaz GS, Galina CS, Basurto CH, Ochoa GP. Efecto de la progesterona natural con y sin la adición de benzoato de estradiol sobre la presentación de celo, ovulación y gestación en animales tipo *Bos indicus* en el trópico mexicano. *Arch. Med. Vet* 2002; 34 (2): 235-243.
17. Echterkamp SE, and Gregory KE. Effects of twinning on postpartum reproductive performance in cattle selected for twin births. *J Anim Sci* 1999; 77: 48-60.
18. Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Anim Sci* 1989; 72: 68-78.
19. Engler D, Pham T, Fullerton MJ, Ooi G, Funder JW and Clarke IJ. Studies of the secretion of corticotropin-releasing factor and arginine vasopressin into the hypophysial-portal circulation of the conscious sheep I. Effect of an audiovisual stimulus and insulin-induced hypoglycemia *Neuroendocrinology*. 1989; 49: 367-381.
20. Fanning MD, Lunt DK, Sprott LR, and Forrest DW. Reproductive performance of synchronized beef cows as affected by inhibition of suckling with nose tags or temporary calf removal. *Theriogenology* 1995; 44: 715-723.
21. Forrest PK, Rhodes RC, Randel RD. Effect of variable suckling intensity and estrogen administration upon serum luteinizing hormone in Brahman cows. *Theriogenology* 1980; 13: 333-339.

22. Forrest PK, Rhodes RC, and Randel RD. Effect of bleeding stress and variable suckling intensity upon serum luteinizing hormone in Brangus heifers. *Theriogenology* 1980; 13: 321-331.
23. Galina CS, Arthur GH. Review of cattle reproduction in the tropics part 3. *Puerperium Animal Breeding Abstracts* 1989; 57: 899-910.
24. Galina CS, Rubio I, Basurto H, Orihuela A. Consequences of different suckling systems for reproductive activity and productivity of cattle in tropical conditions. *Applied Animal Behaviour Science* 2001; 72: 255-262.
25. Galina CS. Resolución del problema de anestro posparto. *Memorias del X Curso internacional de reproducción bovina, mayo de 2004: pp 71-75.*
26. Gallegos SJ. Dinámica Folicular. *Memorias del X Curso internacional de reproducción bovina, mayo de 2004: pp 50-57.*
27. García E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen 1981; p. 192
28. González-Padilla E, Ruiz DR. Utilización de prostaglandina $F_{2\alpha}$ para sincronizar el estro en Bovinos. *Tec. Pec. Mex.* 1975; 28: 16-20.
29. Hansel W, Convey EM. Physiology of the estrous cycle. *Journal of Animal Science.* 1983; 57 (Suppl. 2): 404-424.
30. Hernández CJ. Anestros posparto. Bovinos. *Mejoramiento Animal: Reproducción. División Sistema Universidad Abierta y Educación a Distancia.*

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México 2ª edición 2ª reimpresión 2002; pp 81-86.

31. Hoffman PD, Stevenson SJ, Minton EJ. Restricting calf presence without suckling compared with weaning prolongs post-partum anovulation in beef cattle. *Journal Anim. Sci.* 1996; 74: 190-198.
32. Hopster H, O'Connell JM, Blokhuis HJ. Acute effects of cow-calf separation on heart rate, plasma cortisol and behaviour in multiparous dairy cows. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 1995; 44:1-8.
33. Hudson SJ, Mullord MM. Investigations of maternal bonding in dairy cattle. *Applied Animal Ethology* 1977;3:271-276.
34. Jenkin G. Oxitocin and prostaglandin interactions in pregnancy and at parturition. *Journal Reprod Fertil* 45 (suppl) 1992; 97-111.
35. Jephcott EH, JC McMillen, J. Rushen, A. Hargreaves and GD Thurburn. Effect Of electro-immobilization on ovine plasma concentration of β -endorphin / β -lipotrophin, cortisol and prolactin. *Res. Vet. Sci.* 1986; 41:371-377.
36. Labhsetwar AP, Collins WE, Tyler WJ, Casida LE. Some pituitary-ovarian relationships in the periparturient cow. *Journal Reprod Fertil* 1964; 8:85.
37. Lamb GC, Miller BL, Lynch JM, Thompson KE, Heldt JS, Loest CA, Grieger DM, Stevenson JS. Twice daily suckling but not milking with calf presence prolongs postpartum anovulation. *J Anim Sci* 1999; 77: 2207-2218.

38. Lammoglia MA, Short RE, Bellows SE, Bellows RA, MacNeil MD, Hafs HD. Induced and synchronized estrus in cattle: Dose titration of estradiol benzoate in peripuberal heifers and postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin- $F_{2\alpha}$. *J Anim Sci* 1998; 76: 1662-1670.
39. Larson LR, y Kiracofe GH. Estrus after treatment with Syncro-mate B in ovarietomized heifers is dependent on the injected estradiol valerate. *Theriogenology* 1995; 44: 177-187.
40. Lay DC, Friend TH, Randel RD, Bowers CL, Grissom KK, Neuendorff DA, Jenkins OC. Effects of restricted nursing on physiological and behavioral reactions of Brahman calves to subsequent restraint and weaning. *Applied Animal Behaviour Science* 1998; 56: 109-119.
41. MacMillan, KI, Taufa VK, and Barnes, DR. Development of CIDR dispensers for oestrus control in dairy cattle. New Zealand Ministry of Agriculture and Fisheries Agricultural Research Annual Report. 1987; 86: pp 30.
42. Martin P. and Bateson P. Measuring behaviour and introductory guide. Cambridge University 2a. edition. 1993; 62-83.
43. Mc Neilly AS. Suckling and the control of gonadotropin secretion. In the physiology of Reproduction 1988; 2323-2349.
44. Metz, J. Productivity aspects of keeping dairy cow and calf together in the post-partum period. *Livestock Production Science* 1987; 16:385-394.

45. Meza HC. Desarrollo folicular, luteogenesis y esteroidogenesis (arquitectura y función del cuerpo lúteo). Memorias del curso de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes CP 2003; 189-202.
46. Nelson RJ. Stress. An introduction to behavioral endocrinology 2000; 557-591.
47. Nett TM, Cermak D, Braden T, Manns J, Niswender G. Pituitary receptors for GnRH and Estradiol, and pituitary content of gonadotropins in beef cows. II Changes during the postpartum period. *Domest Anim Endocrinol* 1988; 5:81-89.
48. Orihuela A. Effect of calf stimulus on the milk yield of Zebu type cattle. *Applied Animal Behaviour Science* 1990; 26: 187-190.
49. Orihuela A, Galina CS, Escobar FJ, Riquelme E. Estrous behaviour following PGF_{2α} injection in zebu cattle under continuous observation. *Theriogenology* 1983; 19: 795-809.
50. Orihuela A. Some factors affecting the behavioural manifestation of oestrus in cattle: A review. *Applied Animal Behaviour Science* 2000; 70:1-16.
51. Peters AR, Lamming GE. Lactational anoestrus in farm animals. *Reviews of Reproductive Biology* 1990; 12: 245-288.
52. Porras AA, Galina HC. Utilización de progestágenos para la manipulación del ciclo estral bovino. *Vet. Mex.* 1992; XXIII: 1: 31- 36.
53. Price EO, Harris JE, Borgwardt RE, and Sween ML. Fence line contact reduces the negative effects of weaning on the behavior and growth of beef

calves. Proceedings on the 35th. International congress of the ISAE, University of California Davis 2001 august 4-9, p. 43.

54. Pulido A, Zarco L, Galina CS, Murcia C, Flores G, Posadas E. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle; Effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. *Theriogenology*. 1991; 35: 965-975.
55. Quesada Y, Estrada S, Cubero M, García F, Galina CS, Molina R, Orihuela A. A note on the effects of calf stimuli on the response of Zebu cows to Synchro-mate B. *Applied Animal Behaviour Science* 2001; 71: 183-189.
56. Rathbone M.J., Kinder J.E., Fike K., Kojima F. Clopton D., Ogle C.R., Bunt C.R. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system desing for the control of the estrous cycle in cattle. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2001; 50: 277-320.
57. Rathbone MJ, Macmillan KL, Inskeep k, Burggraaf S, Bunt CR: Review fertility regulation in cattle. *Journal of controlled Release* 1998; 54: 117-148.
58. Rhind SM, Bramley TA, Wright IA, McMillen SR. FSH y LH receptor concentrations in large ovarian follicles of beef cows in high and low levels of body condition at nine weeks post partum. *Reprod Fertil Dev*. 1992; 4: 515-522.
59. Salfen BE, Kojima FN, Bader JF, Smith MF and Garverick HA. Effect of short-term calf removal at three stages of a follicular wave on fate of a dominant follicle in postpartum beef cows. *J Anim Sci* 2001; 79: 2688-2697.

60. Santos de los, VS, González-Padilla E, Ruiz DR. Efecto del destete precoz y de implantes del progestageno SC21009 en la inducción del estro en vacas cruzadas de Cebú en malas condiciones físicas. *Tec. Pec. Mex.* 1979^a; 36: 21-27.
61. Santos de los, VS, Taboada SJJ, Montañó BM, González-Padilla E, Ruiz DR. Efecto de la lactación controlada, y tratamientos con hormonas esteroides en la inducción y sincronización del estro en vacas encastadas de Cebú. *Tec. Pec. Mex.* 1979^b; 36: 9-14.
62. Sapolsky RM. *Stress, the aging brain, and the mechanisms of neuron death* MIT Press, Cambridge, M. A 1992
63. Short RE, Bellows RA, Staigmler RB, Berardinelli JG, Custer EE. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J Anim Sci* 1990; 68: 799-816.
64. Silveira PA, Spoon RA, Ryan DP, Williams GL. Evidence for maternal behavior as requisite link in suckling-mediated anovulation in cows. *Biology of Reproduction* 1993; 49: 1338-1346.
65. Smith MF, Burrell WC, Shipp LD, Sprott LR, Songster WN, and Wiltbank. Hormone treatments and use of calf removal in postpartum beef cow. *J Anim Sci.* 1979; 48: 1285-1294.
66. Stagg K, Spicer LJ, Sreenan JM, Roche JF, and Diskin M. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. *Biology of Reproduction* 1998; 59: 777-783.

67. Stevenson JS, Knoppel EL, Minton JE, Salfen BE, Garverick HA. Estrus, ovulation luteinizing hormone, and suckling-induced hormones in mastectomized cows with and without unrestricted presence of the calf. *J Anim Sci* 1994; 72: 690-699.
68. Stevenson JS, JR. Jaeger, I. Rettmer, MW. Smith and LR. Corah. Luteinizing hormone release and reproductive traits in anestrous, estrus cycling, and ovariectomized cattle after tyrosine supplementation. *J Anim Sci* 1997; 75: 2754-2761.
69. Tancin Vladimir, Kraetzl WD, Schams D, Bruckmaier RM. The effects of conditioning to suckling milking and of calf presence on the release of oxytocin in dairy cows. *Applied Animal Behavior Science* 2001; 72: 235-246.
70. Toribio RE, Molina JR, Forsberg M. Kindahl H. and Edqvist LE. Effects of calf removal at parturition on postpartum ovarian activity in zebu (*Bos indicus*) cows in the humid tropics. *Acta Vet. Scand* 1995;36: 343-352.
71. Tilbrook A J, Turner AI, and Clarke IJ. Effects of stress on reproduction in non-rodent mammals: the role of glucocorticoids and sex differences. *Reviews of Reproduction* 2000; 5: 105-113
72. Viker SD, McGuire WJ, Wright JM, Beeman and Kiracofe GH. Cow-calf association delays postpartum ovulation in mastectomized cows. *Theriogenology* 1989; 32: 467.
73. Viker SD, Larson RL, Kiracofe GH, Stewart RE, Stevenson JS. Prolonged postpartum anovulation in mastectomized cows requires tactile stimulation by the calf. *J Anim Sci* 1993; 71: 999-1003.

74. Weary DM, Chua B. Effects of early separation on the dairy cow and calf 1. Separation at 6 h, 1 day and 4 days after birth. *Applied Animal Behaviour Science* 2000; 69: 177-188.
75. Webb Ch. Efecto de dos tipos de destetes y la aplicación de un progestágeno sobre la respuesta a celo y fertilidad en vacas cebuinas (*Bos indicus*) en el trópico húmedo. Tesis de licenciatura 2002. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Escuela de Agronomía.
76. Wettemann RP, Hafs HD, Edgerton LA, and Swanson LV. Estradiol and progesterone in blood serum during the bovine Estrous cycle. *Journal of Animal Science* 1972; 34(6): 1020-1024.
77. Williams GL. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: A Review. *J Anim Sci* 1990; 68: 831-852.
78. Williams GL, McVey WR, Hunter JF. Mammary somatosensory pathways are not required for suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion and ovulation in cows. *Biol Reprod* 1993; 49: 1328-1337.
79. Williams GL, Gazal OS, Guzmán Vega GA, Stanko RL. Mechanisms regulating suckling-mediated anovulation in the cow. *Animal Reproduction Science* 1996; 42: 289-297.
80. Yavas Y. and Walton JS. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: A review. *Theriogenology* 2000^a; 54: 1-23
81. Yavas Y and Walton JS. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A Review. *Theriogenology*. 2000^b; 54: 25-55.

82. Zalesky DD, Forrest DW, McArthur NH, Wilson JM, Morris DL, Harms PG. Suckling inhibits release of luteinizing hormone-releasing hormone from the bovine median eminence following ovariectomy. *J Anim Sci* 1990; 68: 444-448.