



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

INTERACCIONES ENTRE ESTACIONALIDAD, CARACTERÍSTICAS
CORPORALES Y LEPTINA EN EL ESTABLECIMIENTO DE LA
PUBERTAD EN VAQUILLAS *Bos taurus taurus* Y *Bos taurus*
indicus

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

PRESENTA:

MVZ. CARLOS HERNÁNDEZ LÓPEZ

TUTOR PRINCIPAL:

DR. EVERARDO GONZÁLEZ PADILLA (FMVZ-UNAM)

COMITÉ TUTORAL:

DR. ALEJANDRO VILLA GODOY (FMVZ-UNAM)
DR. SERGIO IVÁN ROMÁN PONCE (CENIDFMA-INIFAP)



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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 Fabiola Preza, con todo mi amor.

A mis padres: Félix Hernández y Alicia López.

A mis hermanos: Adrián, Ana Patricia, Manuel y Angelina.

A mi tía Leonor Hernández y a mi prima Ana Verónica Vásquez.

A mis padrinos José Luis Maya y Felipa López por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, FMVZ, por permitirme formar parte de esta gran comunidad.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la beca proporcionada a lo largo de la maestría.

Al Dr. Everardo González Padilla, con mi profunda admiración, por todo su apoyo brindado para realizar el presente trabajo.

Al Dr. Alejandro Villa Godoy, Dr. Sergio Román Ponce, M.C. René Carlos Calderón Robles y al Dr. Ángel Ríos Utrera, por su valiosa colaboración y sus acertadas observaciones y su valiosa colaboración.

A la Dra. María del Carmen Espejel del Moral por participar en la revisión de la tesis y formar parte del jurado.

A todos los miembros del Departamento de Reproducción de la FMVZ-UNAM, en especial al Dr. Joel Hernández Cerón.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS	vi
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	7
2.1. Eje hipotálamo-hipófisis-gónada	7
2.1.1. Desarrollo y maduración del eje hipotálamo-hipófisis-gónada	8
2.2. Pubertad.....	10
2.2.1 Control endocrino de la pubertad	12
2.2.2 Efecto neuroendocrino de los esteroides sobre la secreción de GnRH .	13
2.3. Factores que afectan el inicio de la pubertad	16
2.3.1. Raza.....	16
2.3.2. Edad y peso	17
2.3.3. Medio ambiente.....	18
2.3.4. Nutrición	19
2.4 Determinantes internos para el inicio de la pubertad	23
2.5 La leptina y su receptor	25
2.5.1. Función de la leptina en reproducción animal	27
2.5.2 Leptina como un vínculo metabólico y reproductivo.....	27
2.5.3. La leptina en el inicio de la pubertad	28
2.5.4. Sitios de acción y función hipotalámica de la leptina	29
2.6. Beta agonistas de uso comercial	31
2.6.1. Vía de señalización de los beta agonistas	32
2.6.2. Efecto del clorhidrato de zilpaterol en la composición corporal.....	33

3. JUSTIFICACIÓN	35
4. OBJETIVOS	37
4.1. Objetivo general	37
4.2. Objetivos específicos	37
5. HIPÓTESIS	38
6. MATERIALES Y MÉTODOS	39
6.1. Instalaciones	39
6.2. Localización	39
6.3. Diseño general del proyecto.....	40
6.4. Animales experimentales, su manejo y alimentación.....	41
6.5. Observación de estructuras ováricas y secuencias de muestreo sanguíneo	44
6.6. Estimación de parámetros de desarrollo y composición corporal	45
6.8. Análisis estadístico.....	48
7. RESULTADOS	50
8. DISCUSIÓN	63
9. CONCLUSIONES.....	75
10. LITERATURA CITADA.....	76

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Grupos de tratamiento por estación de nacimiento.	41
Cuadro 2. Ganancias diarias de peso y oferta de alimentos propuestas, según las etapas de desarrollo de las vaquillas.	42
Cuadro 3. Niveles de significancia para; peso a la pubertad (PPB), edad a la pubertad (EPB), superficie corporal (SC), peso entre superficie corporal (PPB/SC), peso metabólico entre superficie corporal (PM/SC), condición corporal (CC), músculo largo dorsal (MD), grasa dorsal (GD) y concentraciones séricas de leptina (LEP).	51
Cuadro 4. Medias de cuadrados mínimos y sus errores estándar para; peso a la pubertad (PPB), edad a la pubertad (EPB), superficie corporal (SC), peso entre superficie corporal (PPB/SC), peso metabólico entre superficie corporal (PM/SC), condición corporal (CC), músculo largo dorsal (MD), grasa dorsal (GD) y concentraciones séricas de leptina (LEP).	53

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Repartición de la energía metabólica durante el desarrollo en rumiantes.	24
Figura 2. Mecanismo biológico de respuesta a niveles altos versus niveles bajos de leptina.	30
Figura 3. Odómetro usado para medir la superficie corporal de las vaquillas.	47
Figura 4. Medición de la superficie corporal en vaquillas con el odómetro.	47
Figura 5. Diagrama de dispersión entre las concentraciones séricas de leptina sobre los días transcurridos hasta la pubertad (día 0), en ambas razas (Brahman BHM y Suizo Europeo SE).	52
Figura 6. Medias de cuadrados mínimos y sus errores estándar para superficie corporal (SC), la relación de peso a la pubertad entre superficie corporal (PPB/SC) y la relación de peso metabólico entre superficie corporal (PM/SC).	54
Figura 7. Medias de cuadrados mínimos y sus errores estándar para peso metabólico entre superficie corporal (PM/SC) en la combinación de efectos fijos (tratamiento × raza).	56
Figura 8. Medias de cuadrados mínimos y sus errores estándar para peso metabólico entre superficie corporal (PM/SC) en la combinación de efectos fijos (raza × estación de nacimiento).	57
Figura 9. Medias de cuadrados mínimos y sus errores estándar para edad a la pubertad (EPB) en la combinación de efectos fijos (tratamiento × raza).	58
Figura 10. Inicio de la pubertad en relación a los cambios de hora luz a lo largo del año en vaquillas Brahman (BHM) y Suizo Europeo (SE) de dos estaciones de nacimiento (primavera u otoño).	59

Figura 11. Medias de cuadrados mínimos y sus errores estándar de concentraciones séricas de leptina (LEP) en la combinación de efectos fijos (raza × estación de nacimiento).	60
Figura 12. Medias de cuadrados mínimos y sus errores estándar de concentraciones séricas de leptina (LEP) en la combinación de efectos fijos (tratamiento × estación de nacimiento).	61
Figura 13. Medias de cuadrados mínimos y errores estándar para profundidad del músculo largo dorsal en la combinación de efectos fijos (tratamiento × raza).	62

LISTA DE ABREVIATURAS

RZ	Raza
BHM	Brahman
SE	Suizo Europeo
EN	Estación de nacimiento
PB	Pubertad
SC	Superficie corporal
EPB	Edad a la pubertad
PPB	Peso a la pubertad
PM	Peso metabólico
CC	Condición corporal
MD	Músculo largo dorsal
GD	Grasa dorsal
LEP	Concentraciones séricas de leptina
h	horas
US	Ultrasonografía
KNDy	Conjunto de neuronas que coexpresan Kisspeptina, Neurokinina B y Dinorfina
KISS	Neuronas kisspeptinérgicas
NKB	Neurokinina B
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
FSH	Hormona folículo estimulante
LH	Hormona luteinizante
CRH	Hormona liberadora de la corticotropina
GHRH	Hormona liberadora de la hormona del crecimiento
NPY	Neuropéptido Y
AgRP	Proteína r-agoutí
IGF-I	Factor de crecimiento insulínico tipo I
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
KDa	Kilodalton
MSH-α	Hormona estimulante de los melanocitos
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
ATP	Adenosina trifosfato
CREB	Proteína ligadora del elemento de respuesta a AMPc
RIA	Radioinmunoanálisis

RESUMEN

Se estudiaron los efectos de la raza (RZ), un tratamiento con β -agonista y la estación de nacimiento (EN: primavera u otoño) al inicio de la pubertad (PB) de vaquillas, sobre las variables de: superficie corporal (SC), edad (EPB), peso corporal (PPB), condición corporal (CC: 1 a 9), músculo largo dorsal (MD), grasa dorsal (GD), concentraciones séricas de leptina (LEP) y sus interacciones. La PB se definió como la primera ovulación después de un estro observado, seguida de la formación de un cuerpo lúteo de duración normal. Las observaciones se realizaron en vaquillas (24 Brahman: BHM y 24 Suizo Europeo: SE) de dos EN. La alimentación fue individual desde el destete hasta la PB, con forraje verde y concentrado para obtener ganancias de peso similares. Para inducir cambios en la composición corporal, la mitad de las vaquillas recibió un β -agonista (Zilpaterol®) mezclado en el concentrado. Los pesajes se hicieron cada 14 días, previo ayuno (18 h); los muestreos de sangre cada 2 días y la SC se midió cada 48 días. Mediante ultrasonografía (US), se determinó la profundidad del MD y el grosor de la GD cada 14 días, al igual que las estructuras ováricas. A partir de la detección de estro, la US ovárica se hizo diariamente. La progesterona se usó para confirmar la ovulación. El diseño experimental fue un factorial 2 x 2 x 2 para modelos al azar. Los valores mostrados a continuación fueron diferentes ($P < 0.05$). A la PB, BHM fueron más pesadas y de más edad que las SE (419.28 ± 9.27 vs. 300.78 ± 8.89 kg; 664.49 ± 22.16 vs. 436.99 ± 21.89 días). Las vaquillas control fueron más jóvenes que las tratadas con Zilpaterol, al inicio de la PB (519.62 ± 21.77 vs. 581.86 ± 20.02 días); aunque hubo una interacción en EPB de RZ x EN. La CC a la PB fue de 0.25 pts. más alta en BHM que en SE, y 0.47 pts. más alta en vaquillas tratadas que en las control. Las BHM tuvieron 1.18 m^2 más SC (32%) que las SE. Al calcular PPB/SC la diferencia fue sólo de 5.6%. Cuando se usó peso metabólico (PM) en vez de PPB, la diferencia entre BHM y SE dejó de ser significativa (1.92 ± 0.02 vs. 1.97 ± 0.02 g/cm², respectivamente, $P > 0.05$), con interacciones significativas de RZ x EN y de tratamiento x RZ. El MD a la PB fue 24.9% más grande en BHM que en SE, y GD fue más gruesa en BHM que en SE (56.6%); Las vaquillas que recibieron Zilpaterol alcanzaron la PB con 13.1% más MD y 3.8% menos GD que los controles. LEP a la PB mostró interacciones de RZ x EN y tratamiento x EN. Se concluye que hay efecto de estacionalidad entre RZ y la SC puede estar asociada con la pérdida de calor y energía de los animales por lo que requieren una cantidad mínima de GD y de PM por unidad de superficie, para llegar a la PB. La SC puede estar asociada con las diferencias entre BHM y SE, en edad y peso a la PB, o sea, en precocidad. Este es el primer informe sobre la relación de la SC y el inicio de la PB en el bovino.

Palabras clave: pubertad, condición corporal, estacionalidad, ganado tropical, leptina

ABSTRACT

The effects of breed (BH), treatment with a β -agonist and birth season (SB: Spring or Fall) at the onset of puberty (PB) of heifers were studied, on the variables of: body surface (BS), age (APB), body weight (WPB), body condition score (BCS: 1 to 9), rib-eye (RE), dorsal fat (BF), serum leptin concentrations (LEP) and their interactions. PB was defined as the first ovulation after an observed estrus, followed by the formation of a corpus luteum of normal duration. The observations were made in heifers (24 Brahman: BHM and 24 Brown Swiss: S), half of each breed born in each SB. They were individually fed from weaning to PB, with green forage and concentrate to obtain similar gains among animals. To induce changes in body composition, half of the heifers received a β -agonist (Zilpaterol®). BCS and body weights were taken every 14 days, after fasting (18 h). Blood was sampled every 2 d and BS measured every 48 days. Using ultrasonography (US), the depth of the RE and the thickness of BF were determined every 14 days, as well as the ovarian structures. After estrus detection ovarian US was performed on a daily basis. Progesterone was used to confirm ovulation. The experiment was a completely randomized 2 x 2 x 2 factorial design. All the values presented here were significant ($P < 0.05$). At PB, BHM were heavier and older than S (419.28 ± 9.27 vs. 300.78 ± 8.89 kg, 664.49 ± 22.16 vs. 436.99 ± 21.89 days). Control heifers were younger than treated with Zilpaterol, at PB (519.62 ± 21.77 vs. 581.86 ± 20.02 days); although there was an interaction in APB of BH x SB. The BCS at PB was 0.25 pts. higher in BHM than S, and 0.47 pts. higher in heifers treated with Zilpaterol. At PB, BHM had 1.18 m² more BS (32%) than S heifers. When calculating WPB/BS at PB, the difference was only 5.6%. When metabolic weight (MW) was used instead of WPB, the difference between BHM and S disappeared (1.92 ± 0.02 vs. 1.97 ± 0.02 g/cm², respectively, $P > 0.05$), with significant interactions of BH x SB and treatment x BH. The RE at PB was 24.9% larger in BHM than in S, and BF was thicker in BHM than in S (56.6%); The heifers treated with Zilpaterol reached PB with 13.1% more RE and 3.8% less BF than the controls. The LEP at PB showed interactions of BH x SB and treatment x BH. It is concluded that there is an effect of seasonality between breeds and the BS can be associated with heat and energy loss of the animals, so they require a minimum amount of fat and of MW per unit area of BS, to reach PB. The SC may be associated with the differences between BHM and SE, in age and weight to PB, that is, in precocity. This is the first report on the relationship of BS with the onset of PB in cattle.

Key words: puberty, body condition, seasonality, tropical cattle, leptin

1. INTRODUCCIÓN

La eficiencia reproductiva es un indicador de la habilidad de una vaca para concebir y mantener la preñez cuando esta es servida en un tiempo apropiado en relación con la ovulación (Darwash *et al.*, 1997). Asimismo, una baja fertilidad se ve reflejada en la disminución del margen de ganancia, debido a la pérdida de producción de leche, menor número de terneros (Deresz *et al.*, 1987) y aumento en el costo de reemplazo de vacas (Rodríguez y Martínez, 2010). Uno de los principales componentes de la baja productividad del ganado en el trópico, lo constituye la edad avanzada a la pubertad y al primer parto (Madani *et al.*, 2008).

La pubertad es la consecuencia ineludible del desarrollo, maduración e interacción paulatina, del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal. Que involucra un aumento gradual de la actividad gonadotrófica y de las funciones de esteroidogénesis y de gametogénesis por parte de los ovarios en la hembra. La pubertad representa una situación fundamental en el desarrollo de los animales y en la rentabilidad de la industria pecuaria, que trata de ser cada vez más eficiente, aumentando el número posible de crías a obtener por vientre a lo largo de su vida productiva (Prando, 2015).

La presentación de la madurez sexual en los mamíferos depende de muchos factores como: la raza (Laster *et al.*, 1972), composición corporal, talla del animal, factores medioambientales como las estaciones del año, la temperatura y quizás el factor más importante, el nivel nutricional (Rincker *et al.*, 2011) del que depende la composición corporal y la talla (Kiess *et al.*, 1998).

Recientemente, se han observado actualizaciones en áreas de particular interés relacionadas con el inicio de la pubertad. Especialmente, en la consideración de la función que desempeñan un conjunto de neuronas en el hipotálamo, específicamente en el núcleo arcuato, llamadas neuronas KNDy (llamadas así por su coexpresión de kisspeptina, neurokinina B, y dinorfina); que juegan un papel importante en el establecimiento de la pubertad (Foster y Hileman, 2015).

Así pues, los hallazgos generados en ovinos (Nestor *et al.*, 2012) y en ratas (Navarro *et al.*, 2012) posicionan al sistema KNDy como un elemento clave en la regulación en la activación pulsátil de la secreción de kisspeptina, y en turno de las neuronas GnRHérgicas durante el inicio de la pubertad. En la búsqueda del elemento detonador del inicio de la pubertad, se ha corroborado que existe una secuencia de eventos que comienza con una disminución en la inhibición esteroideogénica del tono kisspeptinérgico de las neuronas KNDy, dirigido a neuronas GnRH hipofisiotrópicas, lo cual resulta en un incremento en la frecuencia de secreción pulsátil de GnRH/LH, por medio del cual se estimula la maduración funcional final de folículos potencialmente ovulatorios con producción de más estrógenos y estos estrógenos a su vez, incrementan el tono kisspeptinérgico del grupo de neuronas localizadas en el área periventricular rostral del tercer ventrículo (en ratas), que promueve la secreción preovulatoria de GnRH/LH (Nestor *et al.*, 2012).

La reproducción y el balance energético están estrechamente controlados y respaldados por mecanismos redundantes que son críticos para la supervivencia de las especies. El papel de la leptina en la pubertad se ha visto corroborado por el descubrimiento de las neuronas KNDy, sobre las que actúa para tener un efecto

indirecto en la secreción de la GnRH (Nagatani *et al.*, 1998; Reynoso *et al.*, 2003) y por ende de la liberación de la hormona luteinizante (LH) por gonadotropos hipofisarios (Avelino-Cruz *et al.*, 2009). La leptina es una hormona proteica sintetizada principalmente por el tejido adiposo, que sirve de señalizador al sistema nervioso central sobre las reservas energéticas del organismo en los depósitos de grasa en el cuerpo (León *et al.*, 2008; Agarwal *et al.*, 2009;). En el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, la leptina juega un papel muy importante en la regulación de la reproducción en mamíferos (Ortiz., 2011).

Desde su descubrimiento en 1994, la leptina ha sido posicionada incuestionablemente como una molécula fundamental en la regulación del desempeño reproductivo, estimulando la liberación de GnRH, FSH y LH (Yu *et al.*, 1997) y también modula la esteroidogénesis folicular directa o indirectamente (Spicer y Francisko, 1997, 1998). Además, la leptina tiene un efecto pleiotrópico en la regulación del apetito, metabolismo energético (Ahima y Flier, 2000; Agarwal *et al.*, 2009), crecimiento, reproducción, composición corporal e inmunidad. Por lo anterior, la leptina es uno de los señalizadores metabólicos que más se investiga. En rumiantes su producción muestra correlación positiva con la cantidad de grasa corporal, con la insulina (su principal regulador), con glucocorticoides y con las horas luz; en tanto que hay una correlación negativa con condiciones de alimentación deficiente (Chilliard *et al.*, 2000; Ahima y Flier, 2000).

La mayoría de los estudios relacionados con la pubertad en vaquillas, generalmente se centran en analizar básicamente el efecto de una variable sobre el fenómeno fisiológico y existen pocos trabajos (Reynolds *et al.*, 1963; Calderón, 1994)

específicamente diseñados para comparar, en condiciones similares, las interacciones de diferentes variables importantes que se sabe afectan la fisiología del establecimiento de la pubertad. Por ese motivo se diseñó el presente estudio para analizar simultáneamente diferentes variables y efectos como la raza y diversos parámetros que actúan como señalizadores de la condición y ambiente interno del animal y otros del medio que lo rodea, que generan interacciones que han sido poco estudiadas y que son, finalmente lo que detona el proceso para el establecimiento de la pubertad.

En el presente estudio se incluyeron grupos tratados con un β -agonista, que según la literatura disponible no se observó efectos adversos específicos en la reproducción en estudios hechos con ratas (Arcella *et al.*, 2016), por lo que se empleó como una herramienta para modificar la composición corporal de los bovinos reduciendo la proporción de grasa corporal y aumento en la síntesis de tejido muscular y acreción de proteína. Se evaluó la asociación entre la concentración sérica de la leptina y se comparó la relación entre peso y composición corporal en el establecimiento de la pubertad. Asimismo, el diseño experimental consideró poder evaluar las interacciones de condiciones propias de los animales, como la raza, y las características corporales con los efectos externos del ambiente como los de estacionalidad. Es importante destacar que se incorporó por primera vez el estudio sobre la relación de la superficie corporal y el inicio de la pubertad en el bovino.

El objetivo central de la presente tesis fue entonces evaluar los efectos y las interacciones de: raza, el tratamiento y la estación de nacimiento, sobre el peso,

características y superficie corporales y las concentraciones de leptina circulante en el inicio de la pubertad en vaquillas manejadas y alimentadas de manera similar desde el destete.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Eje hipotálamo-hipófisis-gónada

El eje gonadotrópico de las hembras está integrado por: el hipotálamo, localizado en la base del cerebro, formado por núcleos neuronales pares y comunicados con la hipófisis por medio de un sistema circulatorio especializado (sistema porta-hipotálamo-hipofisiario). Las neuronas del área ventromedial y del área preóptica del hipotálamo encargados de producir y liberar la GnRH, reguladas por diversas redes neuronales, pero de manera directa por neuronas kisspeptinérgicas; la adenohipófisis, que sintetiza y secreta las hormonas luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH) en respuesta a GnRH; y los ovarios que producen hormonas sexuales como estradiol e inhibina por parte de los folículos y progesterona por el cuerpo lúteo) y ovocitos en respuesta a las gonadotropinas hipofisiarias. El estradiol y la progesterona, además de estimular el desarrollo del aparato reproductor, también participan de manera importante en la regulación de la secreción de GnRH a través de su acción en neuronas kisspeptinérgicas mediante mecanismos de retroalimentación.

La GnRH es secretada en dos patrones principales: la primera es pulsátil basal, que corresponde al modo tónico de secreción de gonadotropinas hipofisiarias que conduce a la foliculogénesis y esteroidogénesis, y que es regulado por medio de

retroalimentación negativa de estrógenos y progesterona; también regulada por estímulos externos (fotoperiodo, bioestimulación, amamantamiento) y por estímulos internos (metabolitos, hormonas metabólicas). La segunda forma es la de liberación cíclica, que corresponde a la descarga preovulatoria de gonadotropinas, también pulsátil, para inducir la ovulación en respuesta a la retroalimentación positiva de los estrógenos. Los pulsos de GnRH determinan la secreción pulsátil de LH y FSH; a pesar de ello, en el control de la secreción de FSH intervienen, además del estradiol, la inhibina, activina y folistatina (Padmanabhan y McNeilly, 2001), por lo que la LH y FSH, en general, presentan diferentes patrones de secreción.

La secreción tónica (pulsátil basal) y cíclica (oleada) de FSH y LH, funcionan con regularidad en las hembras que han comenzado la pubertad y que manifiestan actividad ovárica cíclica; sin embargo, en las hembras infantiles, pre y peripuberales el modo de secreción tónica opera con limitaciones, mientras que el modo de secreción de oleada, aunque se ha demostrado que está potencialmente operativo (González-Padilla *et al.*, 1975a; Schams *et al.*, 1981), está ausente debido a la falta de un estímulo que lo active.

2.1.1. Desarrollo y maduración del eje hipotálamo-hipófisis-gónada

Durante las fases de desarrollo y maduración del eje gonadotrópico, las becerras presentan marcadas diferencias en la secreción de hormonas sexuales a lo largo del tiempo (Atkins *et al.*, 2013). Entre los 3 y 4 meses de edad, se observa un incremento transitorio de las concentraciones circulantes de LH y FSH (Evans *et al.*, 1994) y de estradiol (Nakada *et al.*, 2000) con respecto a edades más tempranas, alcanzando valores similares a los observados cuando se aproxima la pubertad.

Después de ese periodo, las concentraciones hormonales disminuyen y vuelven a ser similares a las observadas desde el nacimiento hasta los 3 meses de edad. Dicho periodo de baja liberación hormonal permanece durante el resto de la etapa pre-puberal, hasta 1 ó 2 meses previos a la pubertad (periodo peri-puberal), cuando se observa un aumento en la secreción pulsátil de LH y estradiol. Durante el periodo pre-puberal, la liberación pulsátil de LH está disminuida, con pulsos que oscilan de 1 a 4 por día; sin embargo, durante el periodo peri-puberal la frecuencia se incrementa a un pulso por hora (Day *et al.*, 1984; Day *et al.*, 1986). A diferencia de la LH, durante los periodos pre y peri-puberal la FSH no presenta un aumento sustancial y más bien disminuye en su secreción durante el periodo peri-puberal (Evans *et al.*, 1994; Nakada *et al.*, 2000; Nogueira, 2004). A través de estos periodos, la FSH presenta incrementos periódicos que preceden al reclutamiento de grupos de folículos antrales pequeños y medianos, mismos que integran a las ondas de desarrollo folicular (Adams *et al.*, 1994; Rawlings *et al.*, 2003). Este reclutamiento folicular en forma de ondas, sucede en las hembras bovinas desde la etapa infantil (Nakada *et al.*, 2000; Honaramooz *et al.*, 2004).

El cambio en el patrón de secreción de GnRH que determina el inicio de la pubertad en los rumiantes se basa en la diferenciada sensibilidad del centro tónico hipotalámico, denominado históricamente como generador de pulsos de GnRH, a los efectos de retroalimentación negativa del estradiol (Amstalden *et al.*, 2011).

En este proceso de maduración sexual el desarrollo del eje gonadotrópico está estrechamente asociado con el crecimiento y desarrollo corporal, mismos que cursan por periodos que se diferencian debido al cambio de peso, por el tipo y

proporción de tejido que se desarrollan y por modificaciones del metabolismo. Así mismo, estudios realizados por William y Amstalden (2010), indican que los cambios en la expresión de péptidos de señalización específicos (neuropéptido Y, NPY; proteína r-agoutí, AgRP) en una región sensora del metabolismo del hipotálamo sirven como puntos focales de desarrollo para las modificaciones que preceden a la activación del generador de pulsos de GnRH (Allen *et al.*, 2012).

2.2. Pubertad

Es la etapa en la que los individuos alcanzan la capacidad de reproducirse y pertenece a una serie de procesos complejos de maduración del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal. La pubertad en la vaquilla ha sido definida por varios autores (Moran *et al.*, 1989; Calderón *et al.*, 1996; Perry, 2016), como la primera ovulación que es precedida por la manifestación externa del estro y seguida por la formación de un cuerpo lúteo de duración normal. En ese sentido, la primera ovulación no es sinónimo de pubertad en la mayoría de las becerras, ya que ésta generalmente no se acompaña de manifestaciones previas de celo y los cuerpos lúteos que se forman, son de corta duración (González-Padilla *et al.*, 1975a; Schams *et al.*, 1981; Calderón *et al.*, 1996). La madurez sexual es completada cuando ha ocurrido el suficiente desarrollo somático, de modo que haya reservas energéticas disponibles para mantener la función reproductiva (Frisch *et al.*, 1991). Para que una vaquilla quede gestante a una edad temprana, es necesario que haya adquirido una actividad ovárica con ciclos estrales regulares, lo cual ocurrirá si previamente alcanzó satisfactoriamente la pubertad (Soárez de Lima Lapetina, 2009).

La edad a la pubertad es una importante característica relacionada con el éxito reproductivo, tiempo de vida productiva y la rentabilidad en la producción de carne. Cuando las vaquillas son seleccionadas como reemplazo para la producción de carne, la pubertad y la edad a la pubertad generalmente no es considerada (Ferrel, 1982). Las vaquillas necesitan parir a los 24 meses (servidas a los 15 meses) para alcanzar el máximo de partos en su vida productiva. La información disponible señala que las vacas que paren a menor edad tienen más tiempo para reiniciar sus ciclos reproductivos e incluso pueden llegar ciclando al próximo empadre y tiene más oportunidades de preñarse al inicio de dicho empadre (Cushman *et al.*, 2013; López-Trujillo *et al.*, 2016).

Desde el punto de vista económico, la edad a la cual los animales alcanzan la pubertad es una característica importante en la productividad de los hatos de cría. Sin embargo, en el ganado *Bos taurus indicus*, cuyo origen es Asia, que es la base de la ganadería tropical en México, la selección por características productivas y en particular reproductivas, es una práctica reciente en comparación con las razas comunes de *Bos taurus taurus*, en las que ésta se ha efectuado durante varios siglos, se han demostrado diferencias significativas en la edad a la pubertad entre razas de ganado *Bos taurus taurus* y *Bos taurus indicus* (Fields *et al.*, 1982; Morris *et al.*, 1989), en parte debido a las diferencias de selección a que se han sometido estas subespecies (Fields *et al.*, 1982; Stewart *et al.*, 1980).

2.2.1 Control endocrino de la pubertad

La pubertad en la hembra bovina, es una etapa del desarrollo sexual, que comienza con la primera ovulación, acompañada o no de manifestaciones estrales y culmina una vez adquirida la ciclicidad, estableciendo ciclos estrales con manifestaciones externas de estro y ovulación que ocurren a intervalos regulares. En el sentido estricto, el inicio endocrino de la pubertad podría establecerse en el primer pico preovulatorio de LH. Todos los acontecimientos previos, endocrinos y anatomofuncionales, que conllevan a este evento, constituyen el periodo prepuberal, mientras que los que se producen después forman parte del periodo puberal (Tortonese, 1986).

El establecimiento de la pubertad depende principalmente de la madurez del eje hipotalámico adenohipofisario, y en menor medida de la capacidad de la hipófisis para producir gonadotrofinas y de la sensibilidad ovárica. Entender los factores que controlan la función de la hipófisis e hipotálamo durante el periodo prepuberal, y cómo estos cambios preparan la primera ovulación, es fundamental para entender los eventos del desarrollo puberal (Evans, 1994).

En el inicio de la pubertad aumenta las concentraciones circulantes de FSH y LH, debido al incremento tanto de la amplitud como de la frecuencia de los pulsos periódicos de tales gonadotropinas. La secreción de GnRH es altamente sensible al efecto de retroalimentación negativa del estradiol en la etapa prepuberal (Maquivar, 2011). A medida que comienza el período peri-puberal y la disminución asociada en la retroalimentación negativa de estradiol, se aumenta la secreción de GnRH y, por lo tanto, de LH, lo que promueve el crecimiento de los folículos ováricos dominantes

y la secreción de estradiol. Como resultado de la disminución progresiva de la retroalimentación negativa de estradiol y el aumento de la secreción de LH durante el período peri-puberal, las concentraciones de estradiol finalmente alcanzan niveles suficientes para inducir el pico puberal de LH (Wiltbank *et al.*, 2003; Maquivar, 2011). La maduración del hipotálamo resulta de una disminución del sistema de retroalimentación negativa del estradiol, lo cual lleva a un incremento de la frecuencia de liberación de los pulsos de la LH (Stahringer, 2003).

2.2.2 Efecto neuroendocrino de los esteroides sobre la secreción de GnRH

El aumento en la frecuencia de la secreción de GnRH es crítico para el establecimiento de ciclos estrales normales en animales prepúberes. La secreción de GnRH está mediada en gran medida por los esteroides ováricos como los estrógenos y la progesterona, sin embargo, otras hormonas y péptidos también afectan su secreción, como la norepinefrina (Han y Herbison, 2008), leptina, IGF-I, GABA, glutamato, neuropéptido Y, activina e inhibina (Clarke, 2011).

El incremento en el patrón pulsátil de la secreción de GnRH debe ocurrir para la inducción de la secreción de gonadotropinas (LH y FSH) y en consecuencia, el crecimiento folicular, la maduración del folículo dominante y finalmente la ovulación. Así mismo, Stahringer (2003) menciona que el aumento del número de pulsos de LH por hora durante la maduración sexual es el principal factor endocrino que regula el inicio de la pubertad en vaquillas.

El descubrimiento de una nueva familia de neuropéptidos, las RF-amidas, ha revolucionado la comprensión de la regulación de las neuronas GnRH. En particular, la hormona kisspeptina ha demostrado estimular la secreción de GnRH (Messenger *et al.*, 2005; Ojeda *et al.*, 2010), la cual comunica los efectos positivos y negativos del estradiol en la liberación de GnRH / LH (Smith *et al.*, 2007), y es absolutamente crítico para el desarrollo puberal (Seminara *et al.*, 2003).

Con base en información generada en roedores, primates y borregos, se sabe que existen dos tipos de neuronas productoras de kisspeptina: Las neuronas KNDy (neuronas que sintetizan los neurotransmisores: kisspeptina, neurokinina B y dinorfina A), que se encuentran en el núcleo Arcuato y las neuronas KISS (donde se sintetiza solo la kisspeptina) y que se encuentran en la porción anterior del hipotálamo, también referida en las ratas, como área periventricular rostral del tercer ventrículo (Lehman *et al.*, 2010).

En otros estudios desarrollados en roedores (Roa *et al.*, 2008), se ha sugerido que las neuronas KNDy del núcleo arcuato son responsables de la liberación tónica de la GnRH, mientras que las neuronas KISS del área periventricular rostral del tercer ventrículo son las responsables de la liberación en forma de oleada de la GnRH. La neurokinina B (NKB) actúa de modo autocrino/paracrino sobre las neuronas KNDy para estimular la liberación de kisspeptina (Navarro *et al.*, 2012) y por consiguiente, induce la secreción de GnRH de una manera indirecta. Por su parte, la dinorfina tiene un efecto opuesto en la secreción de gonadotropinas a través de su capacidad para inhibir la liberación de GnRH. Entonces, el balance y las acciones recíprocas

del conjunto de neuronas KNDy son determinantes de la secreción dinámica de kisspeptina y por consiguiente de la secreción pulsátil de GnRH/LH.

En roedores se ha determinado que la falta funcional del gen del cual se derivan las kisspeptinas o del gen que codifica a su receptor, provoca una baja secreción de gonadotropinas hipofisiarias e infertilidad (Seminara *et al.*, 2003). Durante la maduración puberal, el sistema kisspeptinérgico es sometido a un patrón complejo de activación que parece incluir:

- 1) Incremento del tono endógeno de kisspeptina en torno a la pubertad.
- 2) Mayor sensibilidad de las neuronas de la GnRH a la acción estimuladora de la kisspeptina.
- 3) Cambios plásticos que favorecen un incremento de los contactos sinápticos entre neuronas productoras de kisspeptina y las productoras de la GnRH.

Las neuronas KiSS en el hipotálamo anterior, se reconocen como aferentes primarios a las neuronas GnRH, y se sabe que reciben e integran señales críticas para: el inicio de la pubertad, el efecto positivo y negativo de la retroalimentación de los esteroides sexuales, la regulación metabólica del eje gonadotrópico (por la leptina y otros factores), y el control de la función reproductiva por señales fotoperiódicas, entre otros. En general, las neuronas kisspeptinérgicas juegan un papel fundamental en la integración de diferentes señales aferentes al sistema GnRH; Las neuronas KiSS son las responsables últimas de dirigir la activación central del eje HPG en diferentes estados fisiológicos (Roa *et al.*, 2008).

2.3. Factores que afectan el inicio de la pubertad

2.3.1. Raza

La gran mayoría de la población de bovinos en el trópico de México, proviene de diferentes razas como resultado de varios años de cruzamiento entre ellas. Las razas de mayor influencia son las Cebú, como la Indubrasil, Brahman, Gyr, y la Nelore y las europeas, como el Criollo, Suizo Pardo, Holstein, Charolais y varias de las llamadas continentales. Las razas puras se encuentran en su mayoría en los sistemas dedicados a la producción de pie de cría o en sistemas especializados para la producción de leche (Román, 1981).

Tanto en las razas puras como en las cruzas, se sigue manteniendo el hecho que a mejor alimentación menor edad y mayor peso a la pubertad. Generalmente, las razas de menor tamaño llegan a la pubertad a edad más temprana. Se ha asociado que el cuerpo más pequeño significa aceleración de los procesos fisiológicos. El grupo genético de las becerras determina en gran medida la edad a la que inician la pubertad (Martin *et al.*, 1992). Como se demostró en estudios anteriores realizados por Calderón *et al.* (1996), bajo condiciones similares de manejo alimenticio, las vaquillas Suizo Pardo fueron más precoces y menos pesadas que las vaquillas Cebú a la pubertad (13.65 ± 0.9 vs. 19.27 ± 0.9 meses y 266 ± 8 vs. 334 ± 8 kg, respectivamente). Se ha demostrado que existe una gran variación en el inicio de la pubertad en las diferentes razas de bovinos. Al hacer comparaciones se ha observado las vaquillas *Bos taurus taurus* (Holstein y Angus), están entre las más precoces (González-Padilla, 1978).

A grandes rasgos, las vaquillas de la subespecie *Bos taurus indicus* inician la pubertad a un peso más elevado y a una edad más tardía que las *Bos taurus taurus* (Oyedipe *et al.*, 1982)

2.3.2. Edad y peso

Son muy variables las diferencias que podemos encontrar entre razas en relación con la edad y el peso con el cual un animal inicia la pubertad. Tomando en cuenta que el efecto de la edad y el peso pueden ser minimizados por el efecto de las condiciones ambientales y de manejo, resulta muy complicado establecer parámetros e incluso poder hacer comparaciones entre grupos raciales. En edad y peso a la pubertad en vaquillas Brahman se ha reportado 16 meses y 245 kg (Post y Reich, 1980) y 24.5 meses y 299 kg (Rodrigues *et al.*, 1999). Estas marcadas diferencias entre los dos estudios se pudieron deberse a diferencias nutricionales y factores medioambientales, especialmente el fotoperiodo.

Aunque es cierto que existe una relación estrecha entre el nivel nutricional y la edad a la pubertad, se ha observado una gran variación en el peso en el que las becerras mantenidas al mismo régimen nutricional alcanzan la pubertad (Sorensen *et al.*, 1959). Por esta razón, Greer *et al.* (1983), consideran que, aunque la edad a la pubertad no está determinada por un peso específico, si lo está por un orden indeterminado de condiciones fisiológicas que resultan de un peso dado, en el cual influye la raza, el peso al nacimiento, la estación de nacimiento, la tasa de ganancia posterior al destete y el nivel nutricional posdestete para iniciar la pubertad a edades tempranas.

En estudios de hace más de medio siglo, Reynolds *et al.* (1963) compararon razas europeas con razas cebuínas, mantenidas en un ambiente similar, e informaron que las becerras *Bos taurus indicus* requieren un mayor peso (320 kg) y una mayor edad (816 días) para iniciar la pubertad que las becerras *Bos taurus taurus* (244 kg y 433 días respectivamente). De la misma forma, a lo reportado por Calderón (1994), en el que, en igualdad de condiciones de manejo y alimentación, las becerras Suizo Pardo iniciaron la pubertad a un peso y edad menores que las Cebú (422 ± 18 días; 269 ± 8 kg vs. 603 ± 18 días; 340 ± 8 kg respectivamente).

2.3.3. Medio ambiente

México cuenta con una superficie tropical de 55.7 millones de hectáreas, de las cuales: 56.9% corresponde a trópico seco y el resto a trópico húmedo. Esto representa más del 28% del territorio nacional (SIAP, 2013). Las regiones consideradas como tropicales, Pacífico Sur, Golfo y Yucatán, utilizan 25.7 millones de hectáreas para la ganadería. Esto significa el 46.1% de la superficie tropical total y 23.4% de la dedicada a la ganadería a nivel nacional.

En la pubertad, la información externa y los factores medio ambientales actúan a través de diversas vías neuronales extrahipotalámicas. Las altas temperaturas, la humedad relativa, la radiación, la precipitación y la luminosidad, son los factores ambientales que afectan en mayor grado a la eficiencia reproductiva (Caravaca *et al.*, 2005; Córdova, 2010).

En zonas tropicales y subtropicales, donde las condiciones ambientales afectan tanto el comportamiento productivo y reproductivo de ciertas razas bovinas, la

incorporación de genotipos más adaptados al ambiente es de vital importancia. Una alternativa ha sido hacer cruzamientos de ganado *Bos taurus taurus* con ganado cebuino y, con esto, transmitir esas ventajas de rusticidad y tolerancia al estrés térmico que poseen los animales *Bos taurus indicus*.

La estación de nacimiento de las becerras también ha sido estudiada como otro factor ambiental que afecta el inicio de la pubertad. En ganado Cebú, se ha observado que las vaquillas nacidas en primavera y verano inician la pubertad a menor edad que las nacidas en invierno (Plasse *et al.*, 1968; Lozano *et al.*, 1987; Calderón *et al.*, 1994; Villagómez *et al.*, 2000).

2.3.4. Nutrición

2.3.4.1. Nutrición predestete

Las terneras con mejor alimentación del nacimiento al destete alcanzan la pubertad con menor edad y mayor peso. Así mismo, Allen *et al.* (2012), probaron que las vaquillas alimentadas con una dieta de alto concentrado para promover una ganancia elevada de peso corporal durante la etapa de terneras, exhibieron expresión disminuida de genes sensibles a la leptina en neuronas del núcleo arcuato comparadas con animales que recibieron dietas altas en forraje y con menores ganancias de peso. Esta regulación funcional puede ser la base del proceso de pubertad acelerada. Por otro lado, las terneras sometidas a dietas deficientes, no comienzan la pubertad hasta alcanzar un peso cercano al que tenían los animales bien alimentados al establecimiento de la pubertad (Bavera, 2000).

2.3.4.2. Nutrición posdestete

Estudios en numerosas especies han mostrado que la dieta durante el desarrollo puede controlar parcialmente los cambios fisiológicos necesarios para la pubertad.

Una mala nutrición durante el periodo prepuberal inhibe el desarrollo de un sistema endocrino y reproductivo maduro (Day *et al.*, 1986; Gasser *et al.*, 2006a), y por consecuencia, retrasa el inicio de la pubertad (Day *et al.*, 1984). En general, la alimentación con altas cantidades de concentrados, en vaquillas recién destetadas, (Fajersson *et al.*, 1991; Gasser *et al.* 2006c), reduce significativamente la edad a la pubertad.

La subalimentación por otro lado, no impide que al fin el animal alcance la pubertad, pero puede imponer grandes demoras, hasta el punto que se duplique la edad de aparición de la misma. Sin embargo, la alimentación en exceso, por si misma, no es suficiente para inducir la pubertad; los animales deben cumplir con otras condiciones cómo un mínimo de edad y otras dependiendo de su constitución genética (Bavera, 2000; Nogueira, 2004).

2.3.4.3 Inducción de la pubertad precoz y su relación con la nutrición

El estado nutricional, influye en la síntesis de esteroides de origen ovárico y en particular en la secreción de estradiol. Esta respuesta es debida al incremento de las hormonas metabólicas, como la insulina y la IGF-1, las cuales ejercen efectos positivos sobre los folículos en desarrollo. Aunado a todo esto, el estado nutricional del animal afecta otras hormonas relacionadas con la regulación de la reproducción como la leptina y el neuropéptido-Y, entre otras.

Diversas investigaciones han reportado que la administración de dietas altas en energía a becerras hasta la pubertad, inducen incrementos en la producción de estradiol en comparación con la de los animales alimentados con la dieta control. Los incrementos de estradiol promueven un aumento en la frecuencia de pulsos de LH, variable asociada con el inicio de la pubertad (Maquivar y Day., 2011; Gasser *et al.*, 2006ab). Estudios realizados por Cardoso *et al.* (2014), indican que el inicio de la pubertad puede ser programada nutricionalmente al exponer a las vaquillas a un régimen nutricional escalonado durante el desarrollo juvenil. Ya que alimentar con una dieta alta en concentrado a las becerras, resulta en un aumento en el peso corporal y en la deposición de tejido adiposo, llevando a un inicio temprano de la pubertad. Así mismo, observaron que el aumento en la liberación de GnRH/LH durante la aceleración nutricional de la pubertad está acompañado de cambios recíprocos en la leptina circulante y la liberación central de neuropéptido Y (Allen *et al.*, 2012; Cardoso *et al.*, 2014).

2.3.4.4. El rol de la nutrición y composición corporal en el inicio del ciclo estral normal

El inicio de la pubertad depende de la edad y del peso, pero varía entre razas. Un trabajo al respecto reportó, con múltiples razas bovinas, que las vaquillas tuvieron de un 55% a 60% del peso corporal adulto cuando iniciaron la pubertad (Freetly *et al.*, 2011). Por su importancia práctica, desde hace varias décadas se ha abordado el estudio del efecto de los cambios nutricionales después del destete y su impacto sobre la edad a la pubertad. Vaquillas con pesos bajos alcanzaron la pubertad a una mayor edad que las que tuvieron mayores ganancias de peso (Short y Bellows,

1971; Wiltbank *et al.*, 1985). Lo cual es de gran importancia tener en cuenta en cualquier sistema de producción y principalmente en los sistemas ganaderos en climas tropicales y subtropicales, en donde las condiciones de alimentación y medioambientales generalmente son adversas para los animales.

La información disponible señala diversos beneficios para la eficiencia de los hatos cuando se puede preñar a las vaquillas a los 15 meses de edad o menos. Al respecto, Prando (2015), destaca:

- Aumenta el número posible de crías a obtener por vientre a lo largo de su vida reproductiva.
- Se acorta el intervalo entre partos (Pereyra Gomes de Freitas, 2005).
- Aumento del progreso genético.

Para que una vaquilla quede gestante a los 15 meses de vida o antes, es necesario que llegue con una actividad ovárica adecuada, lo cual ocurrirá si previamente alcanzó satisfactoriamente la pubertad (Soarez de Lima, 2009).

2.4 Determinantes internos para el inicio de la pubertad

Aún se ignora cómo es percibido el crecimiento por el sistema nervioso central en cualquier especie de vertebrado. Durante el desarrollo posnatal temprano, la proporción de superficie corporal es grande en comparación con la pequeña masa corporal, lo que resulta en una rápida pérdida de calor, y la proporción de la energía metabólica para mantener la temperatura corporal central es alta (Webster, 1979; Walker, 1979). Los animales más grandes consumen relativamente menos energía para este fin y pueden almacenar más energía corporal. Durante más de tres cuartos de siglo, se ha supuesto que la tasa metabólica basal aumenta a medida que la masa corporal se eleva en alguna potencia (Kleiber, 1932), definición que sigue en estudio y es cuestionada como principio universal (Kolokotronis *et al.*, 2010) por el efecto que tienen otra serie de factores como el medio ambiente y la taxonomía (McNab, 2008; Sieg *et al.*, 2009).

La energía disponible en el organismo de rumiantes se reparte de manera diferente para distintas funciones, dependiendo de la masa corporal y la etapa de desarrollo del animal. Debe haber un mínimo de excedente de la energía requerida para las funciones vitales de mantenimiento y crecimiento, para acumular parte de esa energía y destinar parte del excedente a funciones reproductivas, como se muestra en la figura 1.

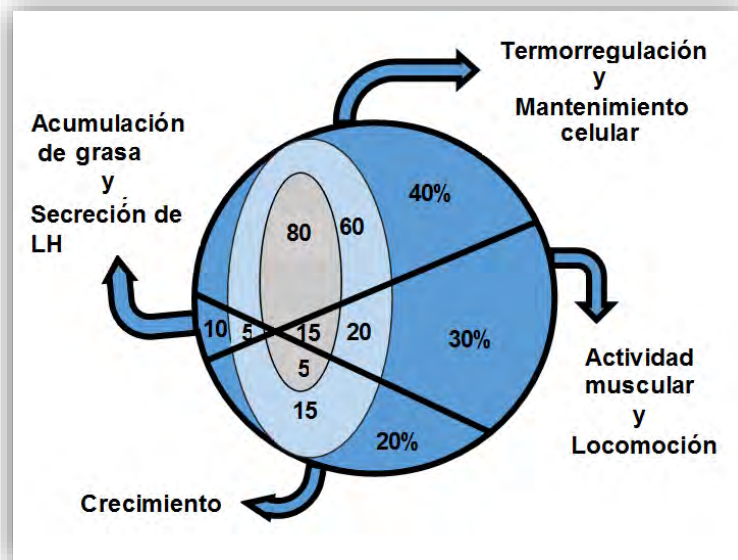


Figura 1. Repartición de la energía metabólica durante el desarrollo en rumiantes. Los círculos y elipses representan el incremento de la masa corporal del nacimiento (elipse interior) hasta la madurez (círculo externo). Cada compartimento está dividido en cuatro cuadrantes para representar la proporción estimada relativa de energía asignada para cada etapa de desarrollo. Adaptado de Foster y Hileman, 2015.

La relación entre la frecuencia de los pulsos de LH y la disponibilidad de energía se ha demostrado, controlando cuidadosamente la ingesta energética en corderos separados de sus madres y alimentados de forma artificial con sustituto de leche (Bucholtz *et al.*, 1993). Estos autores sugieren que sin grandes reservas de grasa durante el desarrollo, los mecanismos que controlan la secreción de GnRH son altamente sensibles a cambios en fuentes externas de combustible metabólico (ej. Leche) incluso de un momento a otro (Foster y Hileman, 2015).

2.5 La leptina y su receptor

La leptina es una hormona proteica de 16 KDa, formada por 146 aminoácidos y es sintetizada principalmente por el tejido adiposo. Es codificada por el gen *ob*, identificado inicialmente al estudiar las causas de la obesidad en el ratón *ob/ob* (Zhang *et al.*, 1994). Las isoformas de receptores de leptina, incluyen receptores de forma larga (Ob-Rb) y algunos receptores de forma corta (Ob-Ra, Ob-Rc y Ob-Rd), así como el receptor soluble (Ob-Re) que se encuentra en plasma circulante (Tartaglia *et al.*, 1995; Tartaglia *et al.*, 1997).

El ARNm de receptores de leptina han sido localizados en una gran variedad de tejidos, principalmente los tejidos adiposos blanco y pardo; también se ha observado en el hígado, músculo esquelético, placenta, cerebro, células de la granulosa, células de la teca, cuerpo lúteo del ovario y en el tejido testicular (Ruíz-Cortes *et al.*, 2003; Ruíz-Cortes *et al.*, 2000; Schneider *et al.*, 2000). Dentro del cerebro, el receptor de leptina se expresa en la corteza, en el tálamo, el hipocampo y el hipotálamo. El hipotálamo, sobre todo el núcleo arcuato, es la zona cerebral con mayor cantidad de receptores de leptina (Ob-Rb), además de ser la más estudiada (Schwartz *et al.*, 1996). Resultados obtenidos en roedores sugieren que el núcleo premamilar media los efectos de la leptina como factor permisivo para el inicio de la pubertad y la coordinada secreción de LH durante condiciones de balance energético negativo (Tena-Sempere, 2012).

La leptina tiene efectos en la ovulación ya que expresa receptores en células foliculares, células de la granulosa, teca y células intersticiales (Geisthovel *et al.*,

1998). Se ha visto que la leptina en el líquido folicular tiene concentraciones similares a los observados en el suero (Agarwal *et al.*, 1999).

En los núcleos hipotalámicos ventromedial y arcuato, la leptina influye en la actividad de una gran variedad de neuronas, promoviendo la liberación de neuropéptidos oréxicos, como el neuropéptido Y, las orexinas, la hormona estimulante de los melanocitos (MSH- α) y las galaninas; y la regulación de los péptidos anoréxicos, dentro de los que se incluye la hormona liberadora de corticotropinas y la hormona liberadora de tirotrópina (Ahima y Hileman, 2000; Bartha *et al.*, 2005; Bjorbaek y Kahn, 2004). Estas señales a su vez activan otras vías neuronales que controlan el sistema neuroendocrino y el metabolismo energético (Fei *et al.*, 1997; Elmquist *et al.*, 1998).

Actualmente se sabe que la leptina actúa como un regulador importante, ya que tiene receptores en el sistema neuronal kipeptinérgico (Roa *et al.*, 2008) y en las neuronas KNDy del hipotálamo, lo cual se ha demostrado en diversos estudios en roedores (Castellanos *et al.*, 2006; Luque *et al.*, 2007). Como lo reportado por Smith *et al.*, (2006) observaron que en ratones ob/ob gonadectomizados y deficientes en leptina, la expresión del gen KISS-1 en el núcleo arcuato se redujo significativamente, lo cual fue revertido parcialmente con la administración intracerebral aguda de leptina. Recientemente, Nakao *et al.*, (2018) con ratas, generaron información que sugiere que la disfunción de la señalización de la leptina afecta negativamente a las neuronas KNDy en el núcleo arcuato, dando como resultado una disfunción reproductiva causada por la supresión del pulso de LH.

2.5.1. Función de la leptina en reproducción animal

En el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, la leptina juega un papel muy importante en la regulación de la reproducción de los mamíferos. Esta hormona actúa en la regulación y secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) por el hipotálamo (Barb y Kraeling, 2004; Williams *et al.*, 2002) y en la hipófisis modula la secreción de la LH, como sucede en algunas especies animales tales como la oveja y bovinos (Malven *et al.*, 1992; Williams *et al.*, 2002). En las vacas, la leptina está relacionada con la regulación del ciclo estral y probablemente implicada en el control de la reproducción. Hay una relación positiva entre los niveles de leptina en el suero y los del fluido folicular. Sin embargo, sólo se han observado cambios limitados en las concentraciones de leptina circulante durante el ciclo estral (Williams *et al.*, 2002). Por otra parte, en algunos estudios se ha encontrado que las concentraciones sistémicas de leptina se incrementan durante la pubertad tanto en machos como en hembras de ganado bovino (García *et al.*, 2002); pero el incremento sólo se mantiene en las hembras, debido a la acción de la testosterona, la cual disminuye la secreción de la leptina en machos (Spicer, 2001).

2.5.2 Leptina como un vínculo metabólico y reproductivo

Se ha observado que las concentraciones circulantes de leptina decrecen durante periodos de consumo reducido de energía (Blache *et al.*, 2000; Nagatani *et al.*, 2000; Sansinanea *et al.*, 2001) que son asociados con una disminución de la secreción de gonadotropinas. Los niveles plasmáticos de leptina también están correlacionados con el incremento de la frecuencia de pulsos de LH (Smith *et al.*, 2002; Carbone *et al.*, 2005). Hasta el momento, no hay un consenso que afirme la habilidad de la

leptina exógena para estimular la secreción de gonadotropinas o adelantar la pubertad en individuos sexualmente inmaduros (Zieba *et al.*, 2005).

2.5.3. La leptina en el inicio de la pubertad

El inicio de la pubertad también puede ser influenciado por factores metabólicos de origen periférico. El descubrimiento de la leptina ha ayudado a entender la relación entre el tejido adiposo y la homeostasis energética. Se ha observado un aumento en las concentraciones séricas de leptina durante la pubertad en vaquillas (García *et al.*, 2002). De esta forma, la leptina puede servir como un señalizador circulante del estado nutricional que activa el eje reproductivo (Barb *et al.*, 2007). Además, la leptina puede jugar un papel principal en la modulación de la actividad ovárica. Ya que el inicio de la pubertad está regulado por la madurez del eje hipotalámico-adenohipofisario. La hembra prepúber responde a la secreción pulsátil de gonadotropinas, secretando estrógeno de manera gradual. En vaquillas y ovejas, aumenta la frecuencia de pulsos de LH, seguida de una elevación transitoria en la descarga preovulatoria de LH (Williams *et al.*, 2002; Foster y Hileman, 2015).

El consumo de energía, la condición corporal o la relación tejido graso y músculo, ejercen de algún modo un control sobre la secreción hipotalámica de la GnRH y pueden constituir un factor permisivo en el inicio de la pubertad y su completo desarrollo. El tejido graso se comporta como un gran órgano endocrino, en el que se sintetiza en su mayor parte la leptina. Múltiples estudios han demostrado que esta hormona se encuentra relacionada con el inicio de la pubertad (Bronson, 2001; Cheung *et al.*, 1997). Las concentraciones de leptina incrementan linealmente de la

semana 16 hasta la semana uno, antes de la ovulación en vaquillas prepúberes, lo que coincide con el inicio de su maduración sexual (García *et al.*, 2002).

2.5.4. Sitios de acción y función hipotalámica de la leptina

El hipotálamo tiene sitios donde actúa la leptina, cuyos receptores están localizados en áreas hipotalámicas relacionados con el control del apetito, gasto energético, la reproducción y el crecimiento (Lin *et al.*, 2000; Tartaglia *et al.*, 1995), específicamente sobre las neuronas kisspeptinérgicas y KNDy (Roa *et al.*, 2008; Nakao *et al.*, 2018). La distribución de los receptores de forma larga (Ob-Rb) se han descubierto en los núcleos ventromedial y arcuato, los cuales son un sitio de acción de la leptina para mediar la homeostasis de la glucosa y la actividad locomotora (Coppari *et al.*, 2005; Cunningham *et al.*, 1999). De esta forma, la leptina puede actuar en forma directa en el sistema nervioso central, regulando la expresión y secreción de muchos neurotransmisores, neuropéptidos y hormonas hipotalámicas. La leptina también regula la neurotensina, la proopiomelanocortina y el ácido gama aminobutírico (GABA) (Cunningham *et al.*, 1999; Iqbal *et al.*, 2001; Sullivan y Moetner, 2004).

2.5.4.1. La leptina y su relación con la secreción de hormonas hipofisarias

En la hipófisis, la leptina modula la LH (Carbone *et al.*, 2005; Smith *et al.*, 2002), la hormona del crecimiento, la prolactina, la FSH y la hormona estimulante de la tiroides (Barb y Kraeling, 2004; Houseknecht *et al.*, 1998; Williams *et al.*, 2002) ya que a nivel de la tiroides disminuye la producción de tiroxina regulando la termogénesis (San Miguel *et al.*, 2006). Se sabe que los cambios repentinos en el balance energético afectan el eje hipotálamo-hipófisis-gónada.

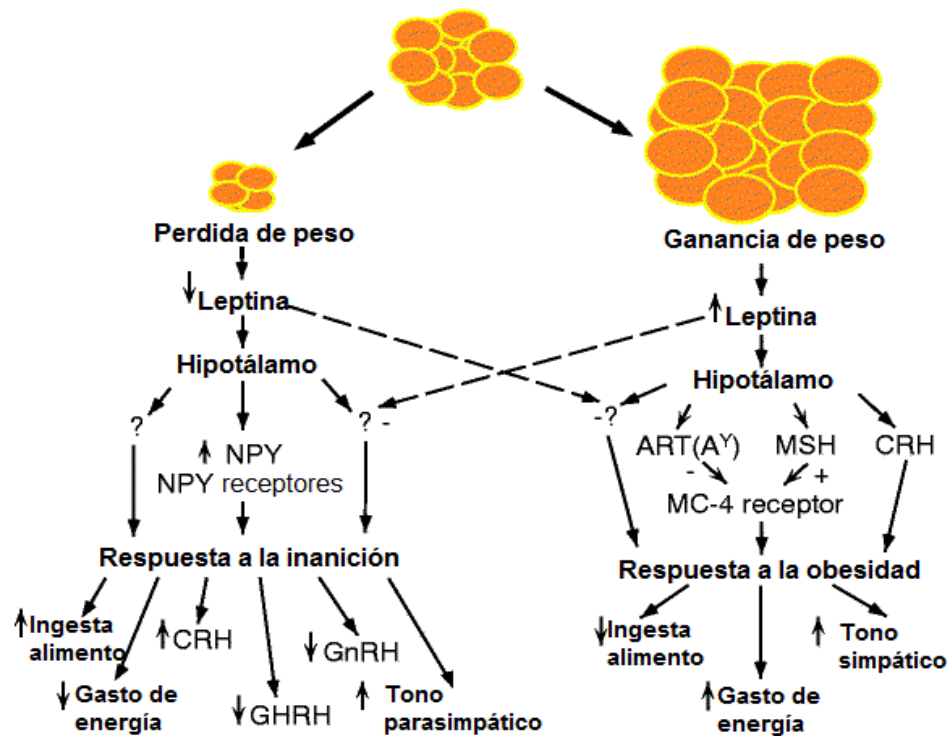


Figura 2. Mecanismo biológico de respuesta a niveles altos versus niveles bajos de leptina. La leptina actúa como parte de un ciclo de retroalimentación para mantener reservas constantes de grasa. Una pérdida de grasa corporal provoca una disminución de la leptina, que a su vez induce la respuesta a la inanición, disminuyendo el gasto energético y estimulando la ingesta de alimentos. Por el contrario, un aumento en la adiposidad conduce a un incremento en los niveles de leptina, lo cual promueve un estado en el que se aumenta el gasto de energía y disminuye la estimulación de la ingesta de alimentos. La evidencia genética indica que diferentes neuropéptidos hipotalámicos pueden mediar estas respuestas. El receptor de melanocortina-4 (MC-4) y sus ligandos, la hormona estimulante de los melanocitos (MSH) y la proteína r-agouti (ART) son probablemente necesarios para la respuesta biológica al aumento de los niveles de leptina. La hormona liberadora de corticotropina (CRH) también media en algunos de los efectos de la leptina, ya que el tratamiento previo con un anticuerpo anti-CRH mitiga los efectos anoréxicos de una dosis intracerebroventricular de leptina. Otros estudios indican que el neuropéptido Y (NPY) es un componente importante de la respuesta biológica a los bajos niveles de leptina y posiblemente la inanición. Es probable que otras moléculas desempeñen un papel en la respuesta a la leptina. Como la GnRH (hormona liberadora de gonadotropina); y la GHRH (hormona liberadora de la hormona del crecimiento). Tomado de Friedman y Halaas, 1998.

2.6. Beta agonistas de uso comercial

La ractopamina y el zilpaterol son agonistas β -adrenérgicos que son legalmente vendidos como aditivos alimenticios para animales, los cuales fueron aprobados por la U.S. Food and Drug Administration (FDA) en el año 2000 y 2006 respectivamente. Desde entonces, estos compuestos han sido utilizadas en animales para abasto, no solo para aumentar el crecimiento muscular y disminuir la cantidad de grasa en la carne, sino también para mejorar la eficiencia en el consumo y ganancia de peso en canal (Rathmann *et al.*, 2012).

Los β -agonistas son moléculas orgánicas que activan la síntesis de proteínas y disminuyen la degradación proteica a nivel celular (Mersmann, 1998; Centner *et al.*, 2014). Los β -agonistas administrados como aditivos en el alimento necesitan ser utilizados bajo regímenes de dosificación específica, que generalmente limita su uso a unas semanas antes del sacrificio (FDA, 2006).

Zilmax contiene como principio activo el clorhidrato de zilpaterol y es usado en ganado bovino (Delmore *et al.*, 2010). Es un β -agonista tipo 2 aprobado para su uso en Estados Unidos, México y Sudáfrica. En ganado de carne, ha demostrado aumentar el promedio de la ganancia diaria de peso, eficiencia en conversión de alimento y rendimiento en canal (Hatefi *et al.*, 2015). Actualmente las tecnologías de promotores de crecimiento incluyen aditivos en el alimento, esto permite producir una mayor cantidad de carne y de esta forma mejorar la eficiencia de producción. Una de estas tecnologías disponibles es el clorhidrato de zilpaterol (Lawrence *et al.*, 2011).

2.6.1. Vía de señalización de los beta agonistas

Hay una respuesta fisiológica cuando un beta agonista se une a un receptor β -adrenérgico. Algunos β -agonistas fisiológicos son la epinefrina y norepinefrina. Cuando un β -agonista se une con un receptor β -adrenérgico y crean un complejo agonista-receptor, se desencadena una cascada de eventos bioquímicos y fisicoquímicos en la célula: se activa la proteína G_s ; la subunidad alfa de la G_s activa la adenilil ciclasa y esta enzima cataliza la formación de adenosina monofosfato cíclico (AMP_c) a partir de ATP. El AMP_c se une a la proteína cinasa A, que a su vez estimula la liberación de la subunidad catalítica de este complejo enzimático lo cual resulta en la fosforilación y por ende activación o inhibición de una serie de proteínas intracelulares que cumplen diferentes funciones. Entre estas se destaca la proteína ligadora del elemento de respuesta a AMP_c (CREB), la que también es fosforilada por la cinasa A y que actúa en el núcleo de la célula activando factores de transcripción (Mersmann, 1998).

En los adipocitos, los β -agonistas actúan sobre los receptores beta adrenérgicos e influyen en el metabolismo celular utilizando la cascada de señalización descrita; esto causa un descenso en la lipogénesis y un incremento en la lipólisis. El crecimiento de adipocitos y la masa de tejido adiposo disminuyen, resultando en animales magros (Dunshea *et al.*, 2005). *In vitro*, es claro que los β -agonistas estimulan la degradación de adipocitos e inhiben la síntesis de triacilglicerol y ácidos grasos en las células y en los tejidos de varias especies domésticas (Mersmann, 1998).

Los β -agonistas al unirse a receptores específicos situados en la superficie de las células musculares modifican procesos bioquímicos que causan una disminución en la degradación de proteína y aumentan la síntesis de proteínas (Eisemann y Huntington, 1993). Los β -agonistas causan un incremento en la transcripción de RNAm para muchas proteínas del músculo esquelético. Algunos β -agonistas son más potentes que otros, las células y tejidos responden de manera distinta debido a los diferentes tipos de receptores β -adrenérgicos y la vía metabólica que están reguladas por ellos (Strydom *et al.*, 2009). Con diferentes dosis, duración de tratamiento, especies y el tipo de β -agonista habrá diferencia en la magnitud de los cambios (Dunshea *et al.*, 2005).

2.6.2. Efecto del clorhidrato de zilpaterol en la composición corporal

El efecto de repartición de los nutrientes que ocasiona una disminución de la lipogénesis (aumento de la lipólisis) y aumento de la acreción muscular, por parte de los β -agonistas ha sido de interés por más de 20 años. En ganado bovino ha sido documentado que el clorhidrato de zilpaterol tiene un efecto de repartición, por un incremento de proteína de la canal y deposición de músculo (Hilton *et al.*, 2009). En estudios hechos por López-Carlos *et al.*, (2011), el zilpaterol mejoró la eficiencia del crecimiento en corderos como resultado de una mayor acreción muscular y una reducción en la grasa. Esto fue una reducción en el grosor de la grasa dorsal y un aumento en el área del músculo dorsal. Mientras que, en otros estudios en ovinos, el zilpaterol incrementó el área del músculo dorsal, pero no disminuyó el grosor de la grasa dorsal significativamente (Vahedi *et al.*, 2014).

Debido a su actividad parcial sobre los adrenorreceptores β_1 , el zilpaterol también tiene el potencial de afectar el músculo cardíaco. En consecuencia, la aplicación de zilpaterol induce preferencialmente el desarrollo de tipos de fibras glucolíticas rápidas sobre los tipos de fibras oxidativas lentas, resultando en una mayor eficiencia en el crecimiento y obteniendo canales magras (Arcella *et al.*, 2016).

3. JUSTIFICACIÓN

La eficiencia reproductiva de las hembras bovinas es esencial para la productividad de un hato, ya que de ella depende la producción de becerros y la producción láctea en las unidades ganaderas. Las vaquillas, que alcanzan la pubertad y paren a los dos años de edad, producen más becerros y destetan más kilos de becerro en su vida que las que lo hacen más tardíamente (Werth *et al.*, 1991; Davis y Wettemann, 2009). En sistemas de producción con épocas de empadre definidas, es importante que las vaquillas alcancen la pubertad antes de que el programa reproductivo de las vacas se inicie, para poder servirles un mes antes de empadrear al hato general y así darles, para el siguiente año un mes más de periodo posparto antes del inicio de la temporada de apareamientos. Por esta razón, el inicio tardío de la pubertad (etapa preproductiva) en las hembras bovinas, como se observa en climas tropicales, es de las principales limitantes de la productividad y rentabilidad de los hatos (Williams y Amstaldem, 2010). Los factores que influyen en el establecimiento de la pubertad, como edad, peso, condición corporal, raza y otros, generalmente se han estudiado sin considerar las interacciones que hay entre las distintas variables importantes involucradas, lo que limita el ámbito de inferencia de los resultados. En virtud de lo anterior, en el trabajo que aquí se presenta, se consideró analizar los efectos principales e interacciones de variables que tradicionalmente se han incorporado en los análisis sobre el tema y, adicionalmente, se incorporaron mediciones tendientes a estimar la importancia de los procesos de acumulación corporal de energía, específicamente grasa corporal y el papel de la superficie corporal y su asociación con el resto de las variables, incluyendo fenómenos de

estacionalidad en genotipos de bovinos *Bos taurus taurus* y *Bos taurus indicus* actualmente comunes en el trópico. El diseño experimental incluyó el análisis de raza, estación de nacimiento y el tratamiento con β -agonistas para modificar la composición de la ganancia de peso, considerando las interacciones entre esas variables. Independientemente de la información científica que se obtenga sobre aspectos fisiológicos del fenómeno de la pubertad, una justificación adicional del trabajo es que la información que se genere permita hacer inferencias sobre las interacciones entre las variables estudiadas, que son comunes en los ranchos, para orientar las medidas zootécnicas de genética, manejo y alimentación recomendables de instrumentar, bajo diferentes condiciones, para que el establecimiento de la pubertad no sea una limitante para la productividad y eficiencia reproductiva de los hatos bovinos de cría en el trópico.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar los efectos y las interacciones de: raza (Brahman y Suizo Europeo), el tratamiento (con o sin β -agonista) y la estación de nacimiento (primavera y otoño), en la edad, el peso, condición y superficie corporales en vaquillas, a la pubertad.

4.2. Objetivos específicos

1. Evaluar el comportamiento de la edad a la pubertad.
2. Evaluar el comportamiento del peso a la pubertad.
3. Evaluar el comportamiento del peso metabólico a la pubertad.
4. Evaluar el comportamiento de la superficie corporal a la pubertad.
5. Evaluar el comportamiento del peso entre la superficie corporal a la pubertad.
6. Evaluar el comportamiento del peso metabólico entre la superficie corporal a la pubertad.
7. Evaluar el comportamiento de la condición corporal a la pubertad.
8. Evaluar el comportamiento del grosor de la grasa dorsal a la pubertad.
9. Evaluar el comportamiento de la profundidad del músculo largo dorsal a la pubertad.
10. Evaluar el comportamiento de las concentraciones séricas de leptina a la pubertad.

5. HIPÓTESIS

Las vaquillas inician la pubertad con características corporales y concentraciones séricas de leptina similares, independientemente de la raza, la edad, el peso corporal o la estación de nacimiento.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Instalaciones

El proyecto se llevó a cabo en el Campo Experimental “Las Margaritas”, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), en Hueytamalco, Puebla, y en el laboratorio de endocrinología reproductiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

6.2. Localización

El Campo Experimental “Las Margaritas” está localizado en la Sierra Nororiental del estado de Puebla, a los 19° 45’ de latitud norte y 97° 20’ de longitud oeste, a una altura de 400 a 500 msnm. El clima es considerado subtropical húmedo Af(c) (Tamayo, 1980), y se caracteriza por tener una temperatura media anual de 21°C, precipitación pluvial anual de 3000 mm y una humedad relativa de 90%.

En el campo experimental se cuenta con corrales individuales para alimentar bovinos en forma controlada, lo que permitió llevar registro individualizado de consumos reales de los diversos componentes de los alimentos que se ofrecieron. La unidad de corrales individuales cuenta con área de manejo con callejón, trampa para ganado y báscula, para llevar a cabo los muestreos y mediciones que se requirieron para el estudio.

6.3. Diseño general del proyecto

El trabajo que aquí se presenta es parte de un proyecto más amplio y se diseñó como un experimento completamente al azar con un arreglo factorial 2 x 2 x 2, donde los factores fueron dos razas: Suizo Pardo Europeo (SE) y Brahman (BHM); dos estaciones de nacimiento: becerros nacidos en primavera o en otoño y dos tipos de crecimiento, con sistemas de alimentación que permitieron ganancias de peso equivalentes, pero uno indujo menor proporción de grasa en el cuerpo, y mayor musculatura, mediante el uso de un fármaco β -agonista.

Se definió el inicio de la pubertad (PB) como: La primera ovulación precedida por un estro observado, seguida de la formación de un cuerpo lúteo de duración normal ($\geq 12 \leq 17$ días) y ciclos estrales regulares (21 ± 4 días).

Las variables de respuesta fueron: La edad a la pubertad (EPB), el peso corporal a la pubertad (PPB), el peso metabólico a la pubertad (PM), la superficie corporal a la pubertad (SC), el peso corporal entre la superficie corporal a la pubertad (PPB/SC), el peso metabólico entre la superficie corporal a la pubertad (PM/SC), la condición corporal a la pubertad (CC), el grosor de la grasa dorsal a la pubertad (GD), la profundidad del músculo largo dorsal a la pubertad (MD) y las concentraciones séricas de leptina a la pubertad (LEP), la cuales se estimaron con el valor de la medición más cercana a la pubertad.

Cuadro 1. Grupos de tratamiento por estación de nacimiento

Tratamiento	Estación de nacimiento de las becerras		
	Primavera	Otoño	Total
Sin β -agonista	n=6 Brahman n=6 Suizo Europeo	n=6 Brahman n=6 Suizo Europeo	n=12 Brahman n=12 Suizo Europeo
Con β -agonista (clorhidrato de zilpaterol)	n=6 Brahman n=6 Suizo Europeo	n=6 Brahman n=6 Suizo Europeo	n=12 Brahman n=12 Suizo Europeo
T o t a l	n=12 Brahman n=12 Suizo Europeo	n=12 Brahman n=12 Suizo Europeo	n=24 Brahman n=24 Suizo Europeo

6.4. Animales experimentales, su manejo y alimentación

Se utilizaron 12 becerras BHM y 12 SE, nacidas entre marzo y abril; y otras 12 becerras BHM y 12 SE, nacidas entre septiembre y octubre. Se evitó que hubiera parentesco cercano (hijas del mismo semental o vaca) entre los animales que se seleccionaron (Cuadro 1).

Las becerras fueron destetadas a los tres meses de edad, y a un promedio de siete meses de edad se inició el experimento y a las becerras se les ofreció alimento en comederos individuales, que consistió en forraje de caña japonesa (*Saccharum sinensi*) fresca picada *ad libitum*, y un concentrado elaborado a partir de grano de cereal, pasta de soya y harina de pescado, en cantidad suficiente para promover ganancias de peso lo más homogéneas posibles, y que fue calculado a partir de las recomendaciones del National Research Council de los EE.UU. (NRC 2000), en cuanto a requerimientos nutricionales de bovinos para carne en crecimiento. El suministro de concentrado se hizo dos veces al día, y en cantidades adecuadas

para satisfacer las necesidades de energía, proteína, Ca y P para las ganancias de peso predefinidas (Cuadro 2). El acceso al agua y sal con minerales fue *ad libitum*.

Las prácticas sanitarias de medicina preventiva (desparasitación y vacunación) se llevaron a cabo bajo un calendario de manejo previamente establecido en el campo experimental, esto con la finalidad de prevenir las enfermedades existentes en la región.

Cuadro 2. Ganancias diarias de peso y oferta de alimentos propuestas, según las etapas de desarrollo de las vaquillas.

Etapa	Ganancia g/d	Consumo estimado de M.S., kg.		
		Forraje	Concentrado	Total
≤ 250 kg	700	4.0	1.5	5.5
251 a 300 kg	800	4.8	2.0	6.8
301 a 350 kg	1000	5.3	2.5	7.8
351 a 400 kg	1200	6.0	4.0	10.0

Los animales fueron pesados cada 14 días, previo retiro de alimento y agua por 18 h. Cada 14 días se hicieron los ajustes individuales de suministro de concentrado, para mantener los cambios de peso lo más cercano posible a la meta prefijada.

Una vez que se definió PB, se registró el peso corporal extrapolando la información de las dos mediciones más cercanas; una medición antes y otra después de la PB. El peso corporal a la PB estimado, se elevó a la 0.75 potencia para estimar el peso metabólico de cada animal a la PB.

Los grupos tratados con Zimax® (clorhidrato de zilpaterol) recibieron en el concentrado el equivalente a 0.15 mg de principio activo/kg de peso corporal/día, de los 220 kg de peso corporal hasta los 300 kg, y a partir de allí a razón de 0.25 mg de principio activo/kg de peso corporal/día hasta que salieron del estudio. El clorhidrato de zilpaterol es un producto registrado y aprobado por SAGARPA como repartidor de nutrientes y promotor del crecimiento, que reduce la lipogénesis, y aumenta el tejido muscular sin afectar la reproducción en estudios multigeneracionales en ratas (Arcella *et al.*, 2016).

Los animales fueron manejados y sujetados con cuerdas desde los 3 meses de edad por un vaquero experimentado, con el fin de que los animales se comportaran con docilidad durante los muestreos a los que fueron expuestos durante el estudio. Las becerras se reunieron en potreros adjuntos a los corrales individuales, dos veces al día, donde se observaron, por una persona experimentada, para identificar las manifestaciones de celo; para ello se prepararon machos celadores con el pene desviado, que se utilizaron en forma alternada.

Los períodos de observación fueron de 1 hora cada vez (7:00 y 19:00 horas) y se registraron las montas aceptadas (homosexuales). Las observaciones se realizaron desde que el animal más pesado alcanzó los 230 kg de peso y hasta el final del estudio, cuando todos iniciaron la PB.

6.5. Observación de estructuras ováricas y secuencias de muestreo sanguíneo

A partir de que fue posible la introducción de la mano por vía rectal, sin lastimar a las becerras, se procedió a registrar, mediante un transductor lineal de 7.5 MHz, por vía transrectal, el tamaño de cada ovario y se hizo un mapeo de los folículos mayores de 3 mm, así como de cuerpos lúteos. El muestreo en el primer mes, se realizó diariamente por períodos de 21 días con 21 días de descanso. La técnica utilizada fue descrita previamente (Pierson y Ginther, 1984 y 1988; Reeves *et al*, 1984), incluyendo el mapeo de las estructuras ovárica en vaquillas (Pierson y Ginther, 1988; Sirois y Fortune, 1988).

Se tomaron tres muestras sanguíneas de cada animal en la primera semana del ingreso al estudio y 28 días después de entrar a los corrales individuales se hicieron muestreos individuales de todas las vaquillas, durante cinco días consecutivos, con la finalidad de establecer las concentraciones basales de progesterona (P4) sérica.

Posteriormente se tomaron muestras preprandiales (ayuno 18 h), de una de las venas coxígeas con tubos al vacío (Vacutainer ®), dos veces a la semana. Esta secuencia de muestreo se mantuvo hasta identificar una ovulación mediante ultrasonido, momento en que cada vaquilla que ovuló (primera ovulación) se muestreó y se observaron las estructuras ováricas diariamente mientras permaneció en el estudio.

Todas las muestras de sangre obtenidas se mantuvieron en refrigeración para su coagulación, y el suero fue recolectado dentro de las tres horas siguientes al

muestreo. El suero se colocó en viales debidamente identificados que se mantuvieron en congelación a -20°C hasta su análisis. Como medida de seguridad, cada muestra se dividió en dos viales que se conservaron en diferentes sitios.

Análisis de hormonas:

Progesterona: se determinó mediante radioinmunoanálisis (RIA) en fase sólida, con estuches comerciales (Diagnostics Products Corporation). Las concentraciones de P4 se utilizaron como indicador de la actividad lútea (valores ± 1 ng/mL) y confirmación del estado prepuberal (valores < 1 ng/mL) de las becerras.

Leptina: se midió con el RIA específico para rumiantes descrito por Delavaud *et al*, (2000). El análisis se realizó en el laboratorio de endocrinología reproductiva de la FMVZ-UNAM.

La leptina se midió en las muestras iniciales, en las tomadas dos veces por semana durante al menos las 16 semanas previas a la primera ovulación y en cuatro muestras mensuales del período previo.

6.6. Estimación de parámetros de desarrollo y composición corporal

Se realizó la calificación subjetiva de condición corporal con base a un puntaje numérico de 1= emaciado a 9= obeso, que fue asignado a cada animal (Richards *et al.*, 1986). Las estimaciones fueron el promedio de las calificaciones independientes de al menos dos evaluadores previamente adiestrados y con experiencia en el trabajo con bovinos para carne. Se calificó la condición corporal en cada pesaje.

Se midió la superficie corporal de los animales cada 48 días a partir de los siete meses de edad a la primera ovulación. Se construyó un odómetro (Figura 3) conformado por un contador mecánico adaptado a un instrumento de rodillos con crayones en los extremos que marcan de manera continua la piel del animal conforme el aparato avanza sobre el cuerpo del animal. Por este medio se obtuvieron valores de la superficie corporal del tronco de los animales; además se empleó una cinta métrica en el miembro anterior y posterior, en ellos se midió la circunferencia superior, circunferencia inferior y largo; en la cabeza, cuello y la oreja, se midió largo y ancho; en la cola se midió circunferencia superior, circunferencia media, circunferencia inferior y largo. Para garantizar la reproducibilidad de las mediciones, el odómetro fue validado y se obtuvo un coeficiente de correlación intraclase de las medidas individuales y promedio de 0.96 y 0.99 respectivamente ($P < 0.0001$), así como una fiabilidad de 0.99 en el Alfa de Cronbach.

El área medida con el odómetro fue establecida con la circunferencia de las ruedas, la distancia entre las mismas y el número de vueltas. Todas estas mediciones fueron tomadas de forma unilateral, tanto las del odómetro como las tomadas con la cinta métrica, y multiplicadas por dos a excepción de la cola y con ello se obtuvo la superficie corporal total de los animales como se puede observar en la figura 4.

Para determinar la superficie corporal (SC), se utilizó la siguiente fórmula:

$$SC = 2 (a + p + m + o) + r + c$$

Dónde: a = área medida con el integrador, p = área de la pierna, m = área del miembro anterior, o = área de la oreja, r = área de la cola y c = área de la cabeza.

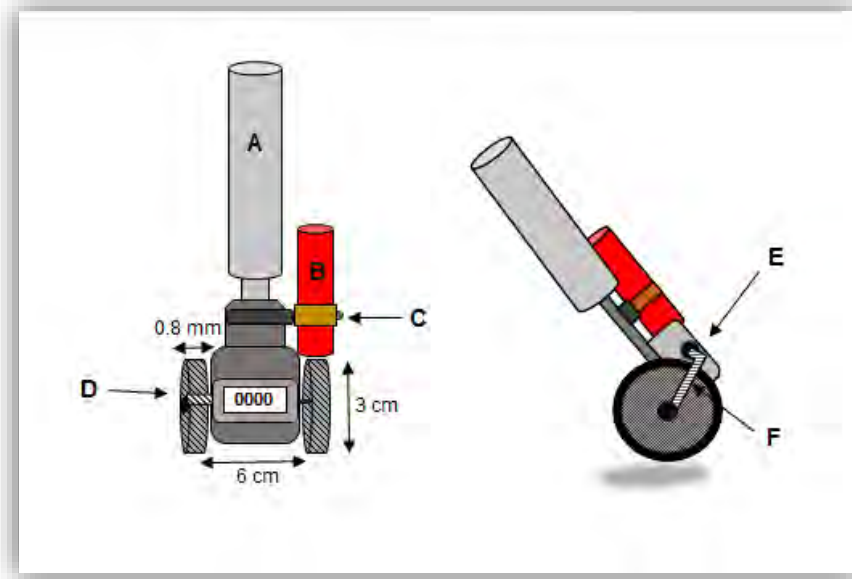


Figura 3. Odómetro usado para medir la superficie corporal de las vaquillas. A, agarradera metálica; B, crayón; C, sujetador del crayón; D, rueda; E, contador mecánico; F, resorte que une el contador con la llanta.



Figura 4. Medición de la superficie corporal en vaquillas con el odómetro.

6.8. Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante análisis de varianza y correlación de Pearson, dentro del arreglo factorial para medir las interacciones. Para la variable LEP se realizó una regresión lineal de las concentraciones séricas de leptina sobre los días transcurridos desde el inicio del estudio hasta el inicio de la pubertad.

En un primer paso se analizaron las variables mediante análisis de varianza con un arreglo factorial 2x2x2, que incluyó las interacciones dobles y triples.

Todas las variables se analizaron con un modelo preliminar completo y de este modelo se eliminó la covariable y las interacciones no significativas para el modelo final. Se incluyó el peso de entrada al experimento como covariable y como bloque (fecha de entrada al experimento) anidado en raza x estación de nacimiento. Las diferencias entre medias se determinaron con la opción PDIFF, todo esto con el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 2002).

Modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + RZ_i + Z_j + EN_k + (RZ*Z)_{ij} + B(RZ*EN)_{ik} + (Z*EN)_{jk} + (RZ*Z*EN)_{ijk} + B*Z_j \\ (RZ*EN)_{ik} + P(X_{ijkl} - \bar{X}_{ijkl}) + \epsilon_{ijkl}$$

Dónde: Y_{ijkl} = valor de las variables de respuesta; μ = media general poblacional de las variables de respuesta; RZ_i = efecto del i-ésimo raza; Z_j = efecto del j-ésimo tratamiento; EN_k = efecto del k-ésimo estación de nacimiento; $(RZ*Z)_{ij}$ efecto la interacción del i-ésimo nivel de raza con el j-ésimo nivel del tratamiento; $B(RZ*EN)_{ik}$ efecto del bloque anidado en la interacción del i-ésimo nivel de raza con el k-ésimo nivel de la estación de nacimiento; $(Z*EN)_{jk}$ efecto de la interacción del j-ésimo nivel

del tratamiento con el k-ésimo nivel de la estación de nacimiento; $(RZ*Z*EN)_{ijk}$ efecto de la triple interacción del i-ésimo nivel de raza con el j-ésimo nivel del tratamiento con el k-ésimo nivel de la estación de nacimiento; $B*Z_j (RZ*EN)_{ik}$ efecto del bloque con el j-ésimo nivel del tratamiento anidado en la interacción del i-ésimo grupo genético con el k-ésimo nivel de la estación de nacimiento; P= coeficiente de la regresión del peso de entrada como covariable; ϵ_{ijkl} = error experimental asociado a cada una de las observaciones.

Por último, se realizó una prueba de homogeneidad con una Chi-cuadrada, para observar el efecto de estacionalidad a la PB de las vaquillas, utilizando las variables categóricas de RZ nacidas en las dos estaciones del año (BHM primavera, BHM otoño, SE primavera y SE otoño) con respecto a las horas luz al inicio de la PB (en aumento o disminución).

7. RESULTADOS

Se encontró una correlación positiva entre el PPB y la EPB ($r = 0.86$; $P < 0.01$), y entre el PPB y la SC ($r = 0.96$; $P < 0.01$). LEP y PPB se correlacionaron ($P < 0.01$) con PPB ($r = 0.28$) y con SC ($r = 0.37$). Se evaluaron los niveles de significancia de los efectos de las variables independientes, en los cuales la RZ afectó a todas las variables de respuesta, excepto PM/SC; el tratamiento no afectó a las variables de GD y LEP, mientras que EN si afectó GD y LEP; como se muestra en el cuadro 3.

La covariable peso de entrada de las vaquillas al experimento sólo resultó significativa en las variables de EPB ($P < 0.01$) y en PPB/SC ($P < 0.05$). Se encontraron interacciones para las variables MD (tratamiento \times RZ; $P < 0.05$), PM/SC (tratamiento \times RZ, RZ \times EN; $P < 0.05$) y LEP (tratamiento \times EN, RZ \times EN; $P < 0.01$), además hubo linealidad ($P < 0.01$) entre LEP con respecto a los días transcurridos hasta la PB, lo que nos indica que por cada día que se acerca a la ovulación, la LEP aumenta 35 pg/mL/día (Figura 5).

Cuadro 3. Niveles de significancia para las variables a la pubertad; peso corporal (**PPB**), peso metabólico (**PM**), edad (**EPB**), superficie corporal (**SC**), peso entre superficie corporal (**PPB/SC**), peso metabólico entre superficie corporal (**PM/SC**), condición corporal (**CC**), músculo largo dorsal (**MD**), grasa dorsal (**GD**) y concentraciones séricas de leptina (**LEP**).

Factor	PPB (kg)	PM (kg)	EPB (días)	SC (m²)	PPB/SC (g/cm²)	PM/SC (g/cm²)	CC (1 a 9)	MD (cm)	GD (cm)	LEP (ng/mL)
Peso Inicial			0.0077		0.0435	0.0383				
Tratamiento (TRT)	0.0002	0.0002	0.0297	0.0174	0.0002	0.0159	<.0001	<.0001	0.2400	0.2371
Raza (RZ)	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0009	0.2938	0.0265	<.0001	<.0001	0.0015
Estación nacimiento (EN)	0.4703	0.4833	0.4055	0.8526	0.0279	0.0262	0.0935	0.4211	0.0574	0.0062
Bloque (RZ*EN)	0.0551	0.0518	0.1170	0.0743	0.0133	0.0049	0.1837	0.0255	0.1061	<.0001
TRT*RZ						0.0268		0.0449		
TRT*EN						0.1345				0.0024
RZ*EN			0.0687			0.028		0.0565		0.0069
Días a la pubertad										<.0001

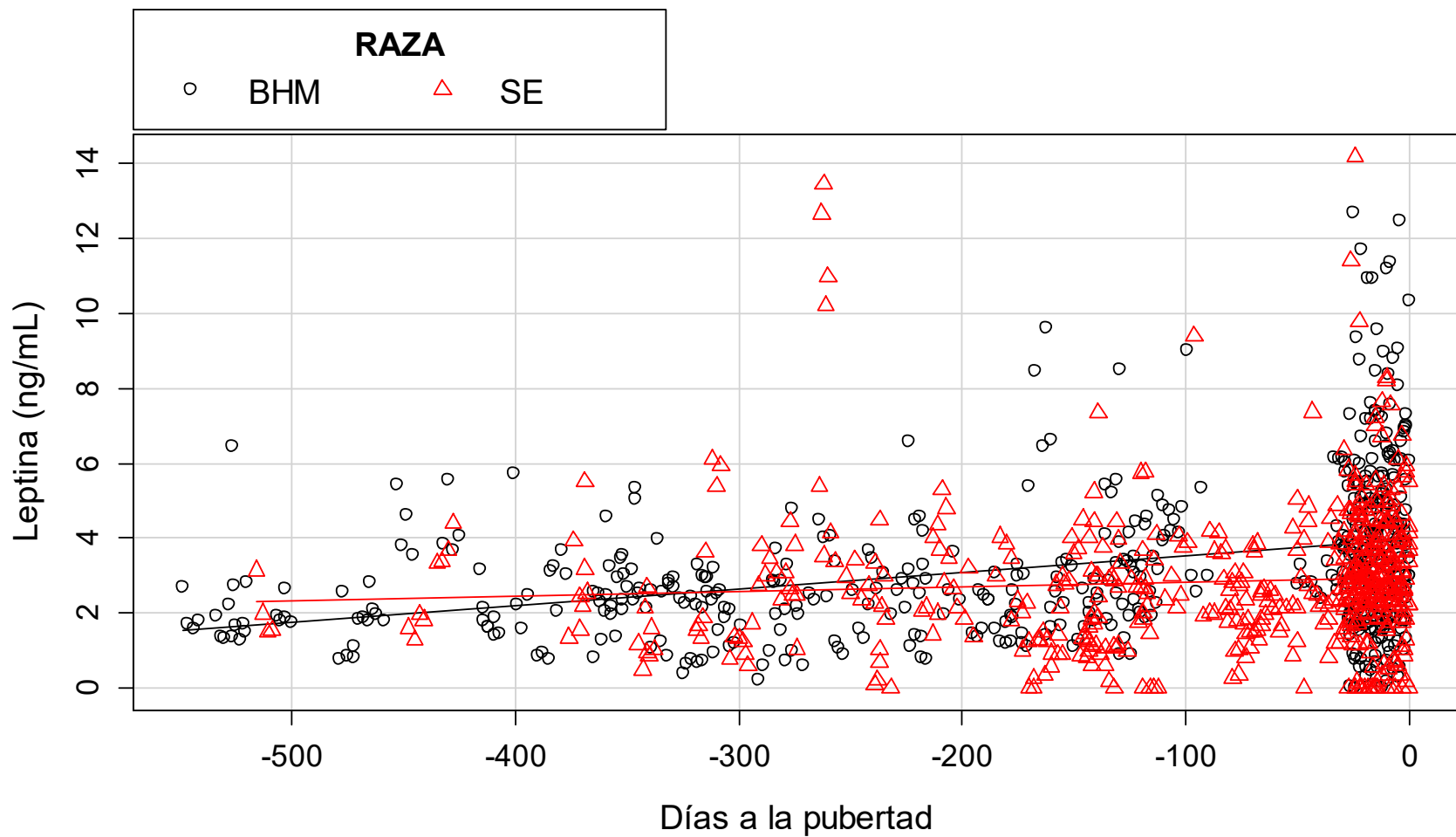


Figura 5. Diagrama de dispersión entre las concentraciones séricas de leptina sobre los días transcurridos hasta la pubertad (día 0), en ambas razas (Brahman BHM y Suizo Europeo SE).

Cuadro 4. Medias de cuadrados mínimos y sus errores estándar para las variables a la pubertad; peso corporal (**PPB**), peso metabólico (**PM**), edad (**EPB**), superficie corporal (**SC**), peso corporal entre superficie corporal (**PPB/SC**), condición corporal (**CC**), peso metabólico entre superficie corporal (**PM/SC**), músculo largo dorsal (**MD**), grasa dorsal (**GD**) y concentraciones séricas de leptina (**LEP**).

Factor	PPB (kg)	PM (kg)	EPB (días)	SC (m ²)	PPB/SC (g/cm ²)	PM/SC (g/cm ²)	CC (1 a 9)	MD (cm)	GD (cm)	LEP (ng/mL)
Raza										
Brahman	419.28 ±9.27 ^a	86.51 ±1.55 ^a	664.49 ±22.16 ^a	4.85 ±0.09 ^a	8.67 ±0.10 ^a	1.92 ±0.02	7.90 ±0.08 ^a	5.86 ±0.10 ^a	1.30 ±0.03 ^a	3.30 ±0.10 ^a
Suizo Europeo	300.78 ±8.89 ^b	66.14 ±1.49 ^b	436.99 ±21.89 ^b	3.67 ±0.09 ^b	8.21 ±0.09 ^b	1.97 ±0.02	7.65 ±0.07 ^b	4.69 ±0.10 ^b	0.83 ±0.03 ^b	2.75 ±0.09 ^b
P	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0013	0.0668	0.0271	<.0001	<.0001	<.0001
Tratamiento										
Control	336.61 ±8.89 ^a	72.41 ±1.49 ^a	519.62 ±21.77 ^a	4.12 ±0.09 ^a	8.19 ±0.09 ^a	1.91 ±0.02 ^a	7.54 ±0.07 ^a	4.95 ±0.09 ^a	1.09 ±0.03	2.95 ±0.09
Zilpaterol	383.45 ±8.35 ^b	80.24 ±1.40 ^b	581.86 ±20.02 ^b	4.41 ±0.08 ^b	8.68 ±0.09 ^b	1.97 ±0.02 ^b	8.01 ±0.07 ^b	5.60 ±0.09 ^b	1.05 ±0.03	3.09 ±0.09
P	0.0002	0.0002	0.0297	0.0174	0.0002	0.0159	<.0001	<.0001	0.2400	0.2371
Estación nacimiento										
Primavera	354.07 ±9.64	75.35 ±1.61	557.76 ±23.32	4.26 ±0.10	8.32 ±0.10	1.92 ±0.02	7.70 ±0.08	5.32 ±0.10	1.11 ±0.03 ^a	2.79 ±0.10 ^a
Otoño	365.99 ±8.46	77.30 ±1.42	543.72 ±20.45	4.27 ±0.09	8.55 ±0.09	1.96 ±0.02	7.85 ±0.07	5.23 ±0.09	1.02 ±0.03 ^b	3.25 ±0.09 ^b
P	0.3579	0.3706	0.6486	0.9029	0.0903	0.1327	0.1731	0.5582	0.0355	0.0006
Media	360.03 ±9.31	76.33 ±1.49	550.74 ±21.90	4.26 ±0.09	8.44 ±0.09	1.94 ±0.02	7.78 ±0.07	5.28 ±0.10	1.07 ±0.03	3.02 ±0.09

Literales distintas (a, b) dentro de la misma columna de un factor, indican diferencia ($P < 0.05$).

Efecto de la raza sobre las variables relacionadas con el inicio de la pubertad

En el Cuadro 4, se muestran las medias de cuadrados mínimos y los errores estándar de las variables en estudio. Las vaquillas BHM en el momento de iniciar la PB fueron 118.5 kg más pesadas que las SE ($P < 0.0001$), diferencia relacionada con la edad, ya que las BHM tuvieron 227.5 días más que la SE ($P < 0.0001$) al presentar la PB. En términos de PM, las BHM mostraron 20.37 kg más que las SE a la PB ($P < 0.0001$). De manera similar, las vaquillas BHM tuvieron 1.18 m² (32%) más de área de SC que las SE ($P < 0.0001$) y la relación PPB/SC fue 5.6% superior ($P < 0.0013$) en las BHM, diferencia que desapareció cuando el cálculo se hizo con el PM/SC ($P > 0.0668$).

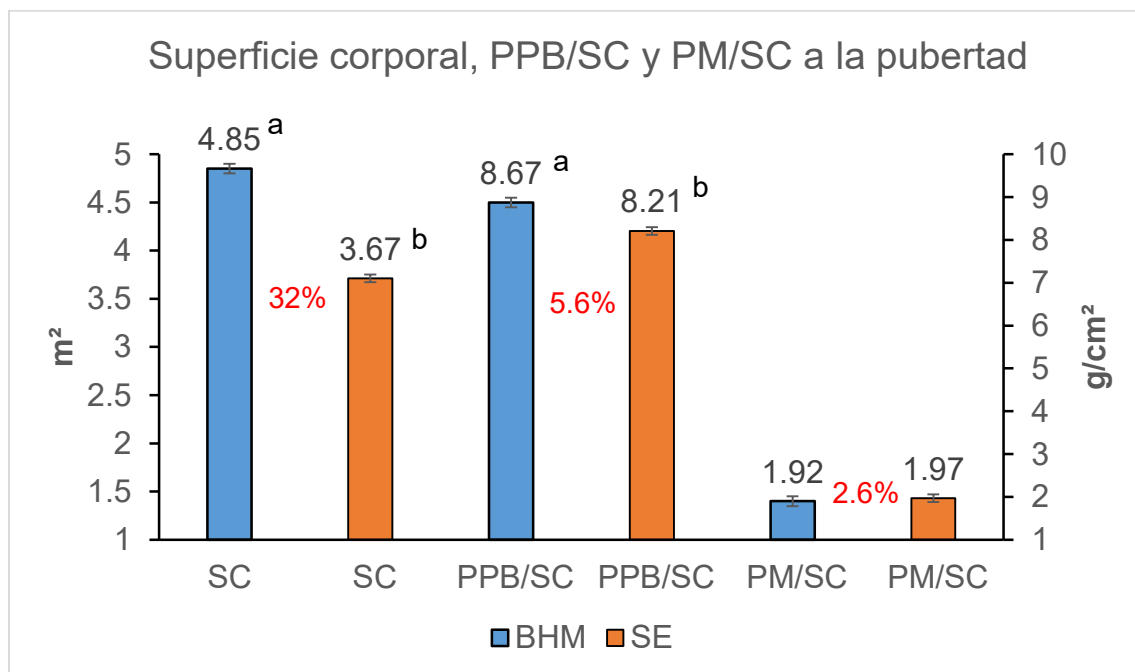


Figura 6. Medias de cuadrados mínimos para superficie corporal (SC), la relación de peso a la pubertad entre superficie corporal (PPB/SC) y la relación de peso metabólico entre superficie corporal (PM/SC). Literales distintas (a, b) entre columnas para la misma variable indican diferencia significativa ($P < 0.01$).

En cuanto a la CC, las vaquillas BHM (7.90 puntos) mostraron 3.3% más ($P < 0.05$) condición que las SE (7.65 puntos) a la PB. Dicha diferencia en CC puede ser atribuida a una mayor ($P < 0.0001$) MD y GD al momento de la PB en vaquillas BHM que en las SE (24.9% y 56.6%, respectivamente). Coincidiendo con lo anterior, las vaquillas BHM tuvieron 20% más ($P < 0.0001$) LEP circulante al momento de la PB que las SE (Cuadro 4).

Efecto del tratamiento sobre las variables relacionadas con el inicio de la pubertad

El tratamiento tuvo un efecto significativo ($P < 0.01$) sobre el PPB; los animales que recibieron Zilpaterol requirieron 46.84 kg más de peso corporal para iniciar la PB, tardaron 62.24 días más que los no tratados ($P < 0.05$) y su SC ($P < 0.001$) y PPB/SC ($P < 0.05$) fue mayor, 7.0% y 6.0%, respectivamente.

La CC a la PB de los animales suplementados con Zilpaterol fue 6.2% mayor que en los del grupo control ($P < 0.001$) y los valores de MD fueron más grandes 13.1% ($P < 0.001$). Por otro lado no se registró diferencia significativa ($P > 0.05$) entre los dos grupos para GD o LEP.

Efecto de la estación de nacimiento sobre las variables relacionadas con el inicio de la pubertad

Solamente se observó diferencia significativa asociada a la EN para las variables GD y LEP; la GD de los animales nacidos en primavera fue 7.8% mayor ($P < 0.05$) y LEP fue 16.5% menor ($P < 0.01$).

Interacciones

En la combinación de efectos tratamiento × RZ, las vaquillas control de ambos grupos raciales, así como las vaquillas BHM tratadas con Zilpaterol tuvieron una menor relación de PM/SC que las vaquillas SE tratadas ($P < 0.01$) como se observa en la figura 7.

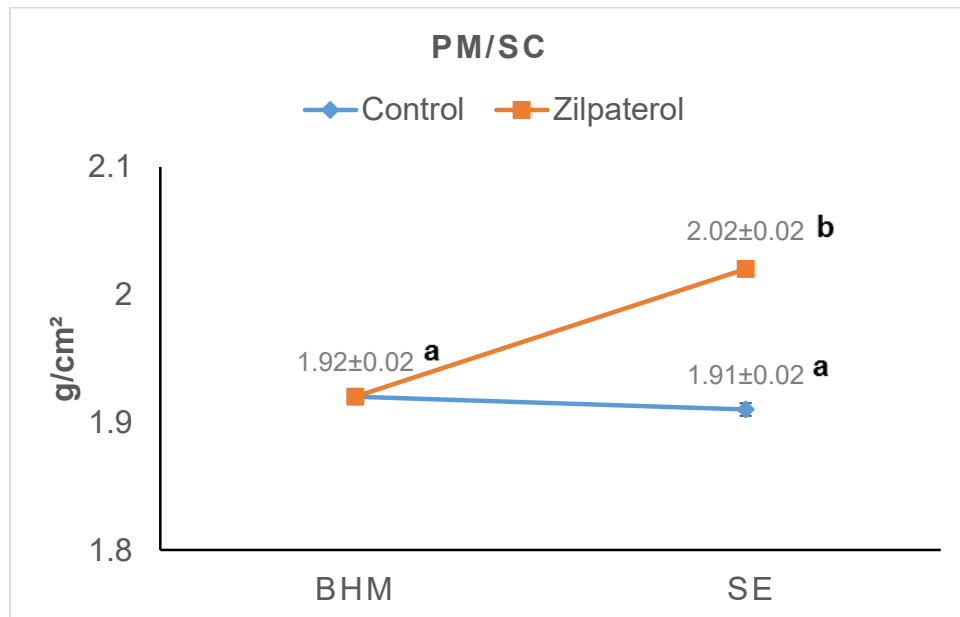


Figura 7. Medias de cuadrados mínimos y sus errores estándar para peso metabólico entre superficie corporal (PM/SC) en la combinación de efectos fijos (tratamiento × raza); Brahman (BHM), Suizo Europeo (SE). Literales distintas (a, b) entre medias indican diferencia ($P < 0.01$).

Las vaquillas SE nacidas en otoño tuvieron una mayor relación de PM/SC ($P < 0.05$) que las SE de primavera y que las BHM nacidas en ambas estaciones (Figura 8).

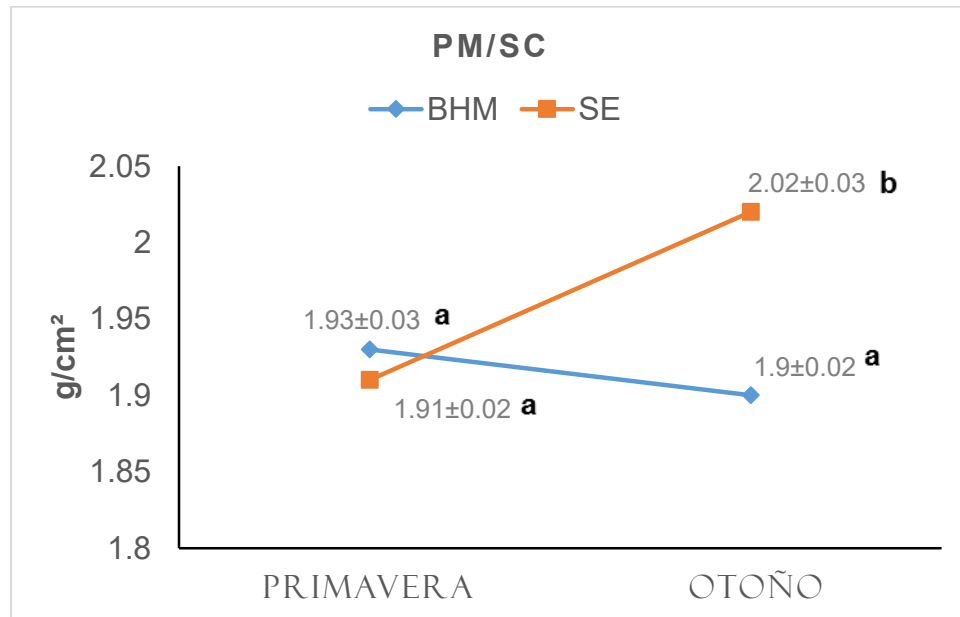


Figura 8. Medias de cuadrados mínimos y sus errores estándar para peso metabólico entre superficie corporal (PM/SC) en la combinación de efectos fijos (raza × estación de nacimiento); Brahman (BHM), Suizo Europeo (SE). Literales distintas (a, b) entre medias indican diferencia ($P < 0.05$).

Se observó una interacción de RZ x EN sobre la variable de EPB a pesar de tener una $P= 0.0687$. En el cual las vaquillas BHM alcanzaron la PB a una edad mucho más avanzada que las SE en ambas estaciones, pero la diferencia fue aún más marcada entre las nacidas en otoño, como se puede observar en la figura 9.

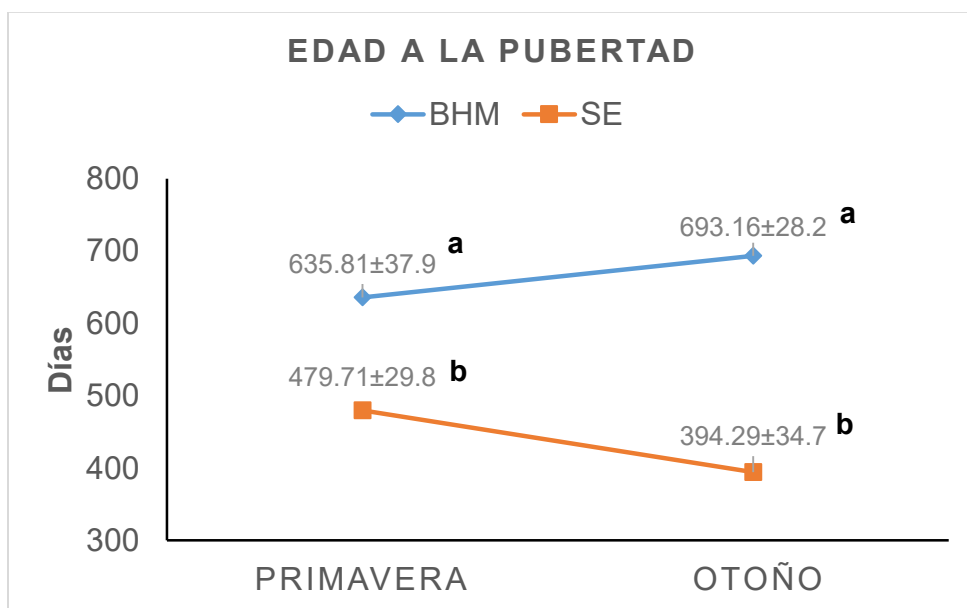


Figura 9. Medias de cuadrados mínimos y sus errores estándar para edad a la pubertad (EPB) en la combinación de efectos fijos (raza x estación de nacimiento); Brahman (BHM), Suizo Europeo (SE). Literales distintas (a, b) entre medias indican diferencia ($P = 0.0687$).

Se observó con una prueba de homogeneidad, que 19 de las 24 vaquillas BHM (Chi-cuadrada; $P < 0.05$) iniciaron la PB en los meses en los que había un aumento de horas luz y sólo cinco vaquillas lo hicieron en los meses en los que las horas luz decrecían. Por el contrario, las vaquillas SE iniciaron la PB independientemente del fotoperiodo, ya que 12 de ellas iniciaron la PB cuando las horas luz iban en ascenso y otras 12 lo hicieron cuando las horas luz descendían (Figura 10).

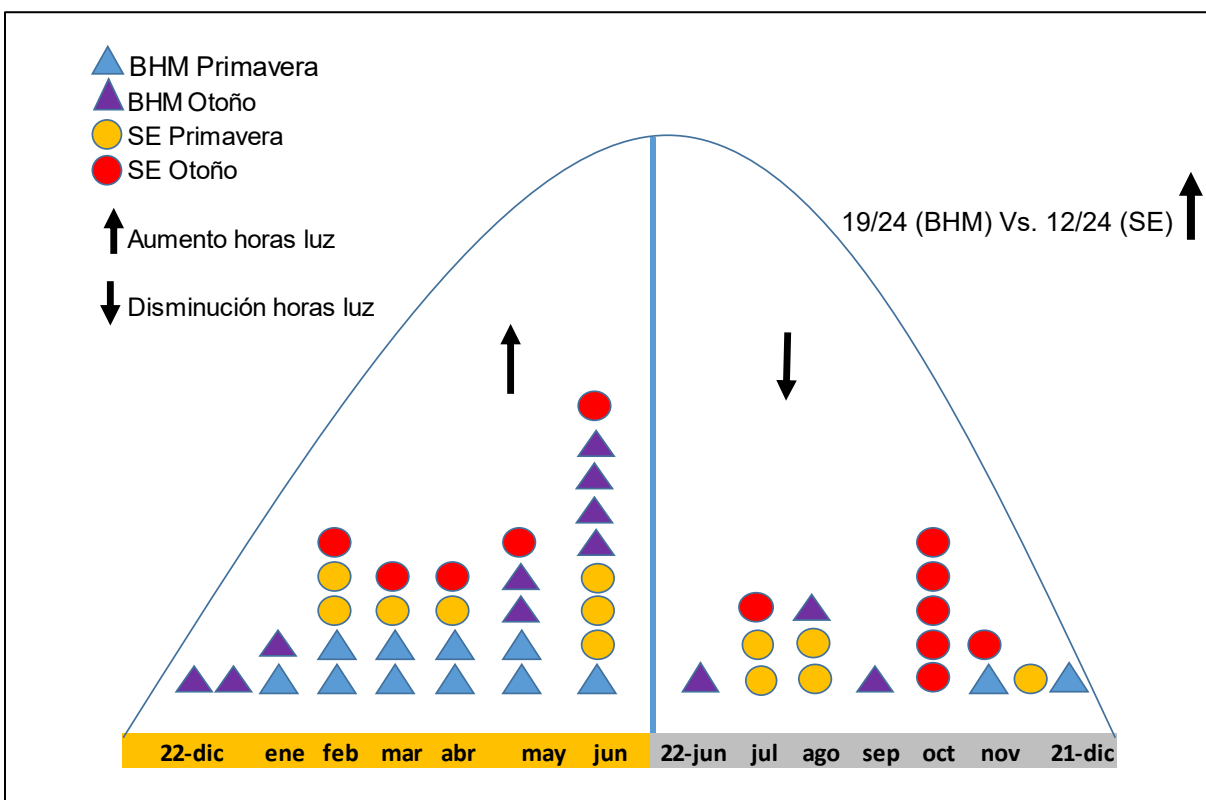


Figura 10. Inicio de la pubertad con relación a los cambios de horas luz a lo largo del año en vaquillas Brahman (BHM) y Suizo Europeo (SE) nacidas en primavera u otoño.

Las vaquillas BHM nacidas en otoño tuvieron LEP más alta ($P < 0.01$) que las BHM nacidas en primavera y que las vaquillas SE nacidas en ambas estaciones (Figura 11).

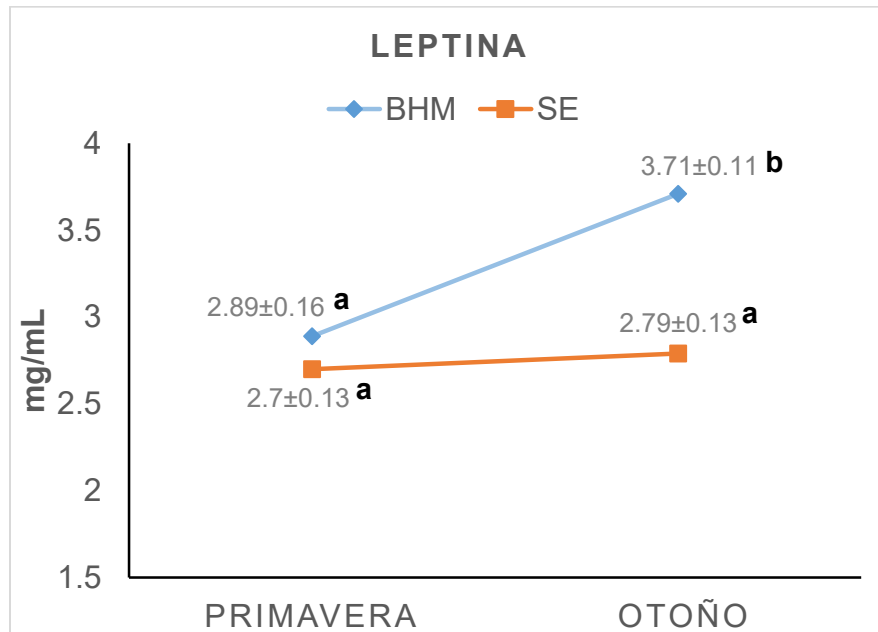


Figura 11. Medias de cuadrados mínimos y sus errores estándar para concentraciones séricas de leptina (LEP) en la combinación de efectos fijos (raza × estación de nacimiento); Brahman (BHM), Suizo Europeo (SE). Literales distintas (a, b) entre medias indican diferencia ($P < 0.01$).

En la combinación de efectos tratamiento × EN, las vaquillas control nacidas en primavera tuvieron la menor LEP ($P < 0.01$) con respecto al resto de combinaciones (Figura 12).

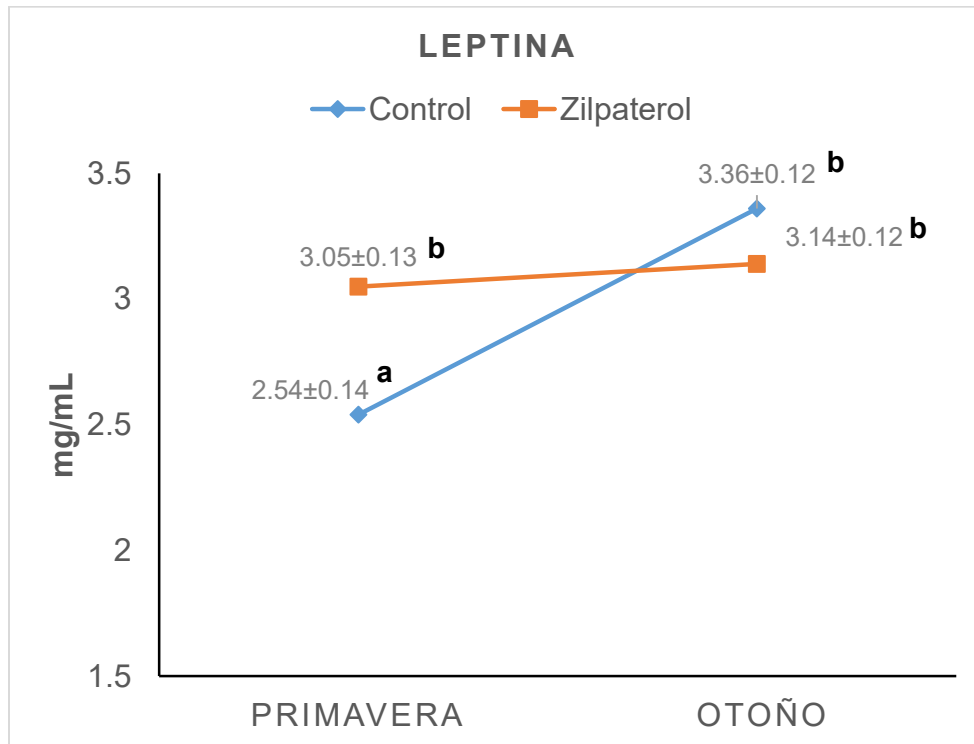


Figura 12. Medias de cuadrados mínimos y sus errores estándar para concentraciones séricas de leptina (LEP) en la combinación de efectos fijos (tratamiento × estación de nacimiento). Literales distintas (a, b) entre medias indican diferencia ($P < 0.01$).

En las interacciones para MD ($P < 0.05$); el valor medio más alto del área del MD se dio en las vaquillas BHM que fueron suplementadas con Zilpaterol, seguida por las BHM que no fueron suplementadas, mientras que el valor más bajo lo obtuvieron las SE control. Aunque todas las combinaciones fueron diferentes, las que contuvieron vaquillas de la raza BHM obtuvieron los valores más altos, ya que tuvieron más peso y edad al iniciar la PB, lo cual se ve reflejado en la profundidad del MD (Figura 13).

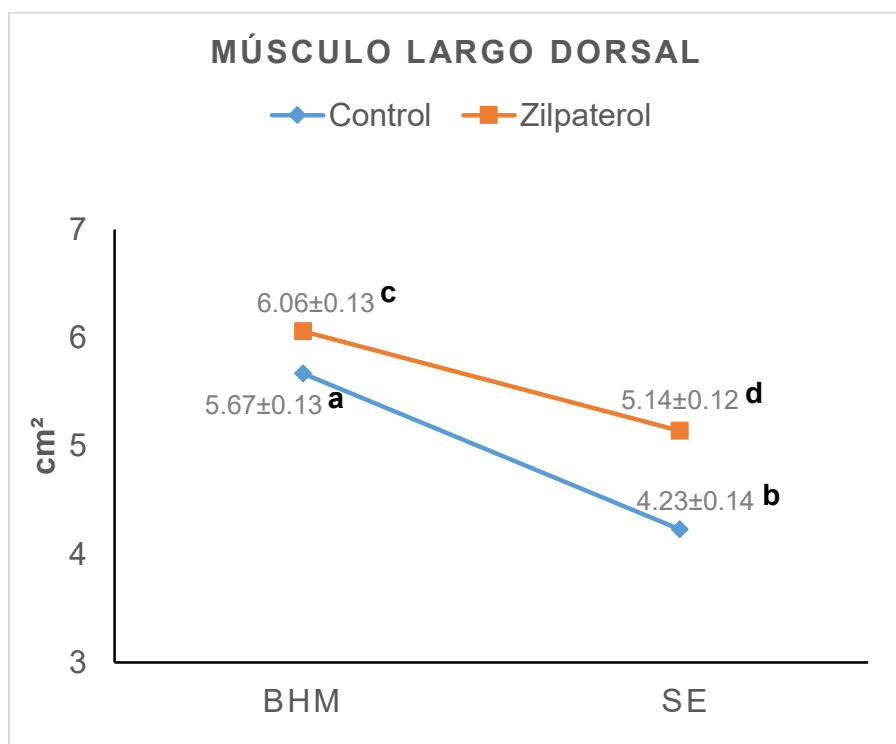


Figura 13. Medias de cuadrados mínimos y sus errores estándar para músculo largo dorsal (MD) en la combinación de efectos fijos (tratamiento × raza); Brahman (BHM), Suizo Europeo (SE). Literales distintas (a, b, c, d) entre medias indican diferencia ($P < 0.05$).

8. DISCUSIÓN

El presente estudio muestra que la SC juega un papel muy importante en la diferencia entre las razas BHM y SE, para la edad, el peso a la PB y que, independientemente de la RZ, todos los animales requirieron de valores muy parecidos de masa corporal con relación a la SC y un mínimo de reservas energéticas en la forma de tejido graso para desencadenar los mecanismos que determinan la PB. Cumplir con esas condiciones depende entonces de factores relacionados con la velocidad de crecimiento, el desarrollo corporal y la posibilidad de almacenar energía en forma de grasa, procesos que dependen por un lado de la oferta de alimentos en cantidad y calidad y por otro, de los animales en función de sus particularidades de consumo, procesos digestivos y metabolismo.

Se ha visto, que en el crecimiento y la composición de la canal, existe una gran variación entre *Bos taurus taurus* (Cundiff *et al.*, 2004, Alberti *et al.*, 2008; Clarke *et al.*, 2009) y *Bos taurus indicus* (Thrift *et al.*, 2010). Así mismo, hay diferencia de RZ en la distribución de la grasa corporal; las razas lecheras depositan una mayor proporción de su grasa internamente y una menor proporción de forma subcutánea que las razas de carne (McGee *et al.*, 2005). Existen diferencias entre RZ en la composición corporal y en las distintas etapas de desarrollo. Las diferencias pueden explicarse por los contrastes en las características y dimensión relativa del aparato digestivo, por el crecimiento diferencial de los diversos órganos y tejidos con relación al crecimiento total del individuo, según la constitución genética y la etapa de desarrollo corporal del individuo. Ello puede modificar el consumo de alimento, su digestión y el reparto de los nutrimentos entre los diversos órganos y tejidos,

incluidos los depósitos de grasa (Keane, 2011). Una posible razón para la reducción de las tasas metabólicas en *Bos taurus indicus* es el menor tamaño de los órganos internos, como se ha visto en sistemas de cruzamientos, donde los animales con mayor proporción de genes cebuinos tienen menor tamaño de los órganos torácicos y abdominales, el peso del rumen y la longitud de los intestinos en comparación con el ganado *Bos taurus taurus* puro (Swett *et al.*, 1961; McDowell *et al.*, 1996). Así mismo, el rumen del ganado *Bos taurus indicus* tiene una tasa de paso del alimento en el rumen más rápida que el ganado *Bos taurus taurus* cuando los animales reciben dietas bajas en nitrógeno (Hegarty, 2004).

El aumento de peso se asocia con diferentes patrones de crecimiento para los órganos que componen el cuerpo; la mayoría de los órganos internos son de maduración temprana, o sea, se acercan a su peso maduro antes de alcanzar el peso corporal final (Black, 1988). Entre otros órganos, el orden de maduración es el esqueleto, el músculo y la grasa, y solo la grasa se aproxima al peso máximo a un ritmo más rápido que el cuerpo entero durante las etapas finales de crecimiento (Black, 1988).

Por lo tanto, no todos los animales dentro de una especie o RZ crecen, se desarrollan o maduran a la misma edad cronológica. La edad estimada a la PB para el ganado Cebú en los trópicos y subtrópicos oscila ampliamente entre 16 y 40 meses (Nogueira, 2004), y por consecuencia tienen su primer parto a una edad avanzada lo cual afecta notablemente su productividad. En el presente trabajo, al iniciar la PB, las vaquillas BHM fueron más pesadas y con más edad ($P < 0.05$) que las SE, estas variables fueron afectadas por la gran diferencia de SC entre RZ, ya

que la relación del peso corporal entre unidad de superficie fue un parámetro que debió cumplirse, por lo que las BHM requirieron un mayor peso, lo que también se vio reflejado en una mayor edad a la PB. Esta observación coincide con lo informado por Reynolds *et al.* (1963), que reportaron que las becerras *Bos taurus indicus* requieren mayor peso y edad para iniciar la pubertad que las becerras *Bos taurus taurus*, y por Calderón (1994), donde manteniendo en igualdad de condiciones de manejo y alimentación, las becerras Suizo Pardo iniciaron la PB a un peso y edad menores que las Cebú. Pereira *et al.* (2017) afirman que los animales de RZ Cebú necesitan más tiempo para alcanzar la PB y para alcanzar la condición de tamaño corporal ideal en comparación con las vaquillas *Bos taurus taurus* y observaron que los animales con un mayor porcentaje de genes cebuinos tuvieron valores más altos de GD, mayor tamaño corporal (frame), e iniciaron la PB de forma más tardía. Por su parte, Nepomuceno *et al.* (2017) con vaquillas Nelore, observaron que una buena alimentación postdestete es un método efectivo para anticipar la PB en Cebú.

Se ha observado que de las razas del ganado *Bos taurus indicus*, la Nelore es la que presenta los mejores parámetros reproductivos, particularmente su precocidad para iniciar la PB (Nepomuceno *et al.*, 2017) y la edad al primer parto (Eler *et al.*, 2002; Nogueira *et al.*, 2003); con la información aquí presentada, se puede especular que esa precocidad pudiera estar relacionada con que la Nelore es la RZ con menor SC y necesitaría menos peso para satisfacer un requisito de PM/SC.

La importancia de la SC en el costo energético de mantenimiento ha sido reconocida y considerada desde hace más de un siglo; de hecho entre los estudios iniciales

sobre metabolismo basal, se discutió que la SC era tan importante o más importante que la masa corporal, lo que llevó a Rubner (1883 citado por Krogh, 1916) a proponer la simple regla de que los homeotermos en ayunas, producen 1000 kcal/m² de SC. Este autor introdujo la "hipótesis de superficie", que estableció que la tasa metabólica de las aves y los mamíferos es aproximadamente proporcional a su área de SC. De la misma forma, Richet 1889, en conejos, concluyó que para el cálculo de la tasa metabólica la SC fue más importante que el peso corporal.

En estudios realizados con roedores, perros, bovinos y humanos, se ha observado que la SC es un parámetro que permite la predicción más precisa de la tasa metabólica (Kleiber, 1932).

En los resultados obtenidos en el trabajo motivo de esta comunicación, las vaquillas BHM tuvieron 32% más SC que las SE al inicio de la PB, pero cuando los cálculos incluyeron PPB entre la SC la diferencia sólo fue de 5.6% entre BHM y SE, y esa diferencia desapareció al considerar PM en vez de PPB entre la SC (Figura 6), lo que indica que se requiere un mínimo de tejidos metabólicamente activos por unidad de superficie de piel para iniciar la PB, lo que es congruente con la correlación de 0.96 ($P < 0.01$) observada entre PPB y SC. Desde hace más de un siglo se sabe que la SC es un elemento de máxima importancia para la economía energética de los animales, y de hecho se consideró como la variable que permitía con mayor precisión las comparaciones entre especies animales, de diferentes tamaños, en estudios cuantitativos de metabolismo (Kleiber, 1947) y promovió el desarrollo de instrumentos de medición (Brody y Elting, 1926 citado por Mitchell *et al.*, 1932).

Actualmente no se cuenta con suficiente información sobre el efecto de la SC relacionado con el inicio de la PB en vaquillas de dos subespecies. Estudios previos como los de Hogan y Skouby (1923) y Elting (1926), se han limitado a medir la SC para ver la relación con el peso corporal de vacas lecheras y validar el uso de una fórmula basada en la ley de Kleiber, para estimar la SC, pero no para ver el efecto sobre la fisiología reproductiva de la hembra bovina y su relación con la composición y las características corporales.

La SC es una característica del crecimiento, que se sabe está asociada con el metabolismo basal, y por lo tanto, potencialmente con la capacidad de deposición de nuevos tejidos (crecimiento), a partir de los excedentes de consumo de energía y proteína después de satisfacer las demandas del metabolismo basal y la locomoción. Se sabe que la SC funciona como un radiador altamente eficiente que permite la disipación de calor (Salles *et al.*, 2016), y que puede estar asociado a un mínimo de deposición de grasa y de masa corporal por unidad de SC.

Desde el punto de vista práctico, el hecho de la mayor superficie de piel en Cebú por un lado le confiere ventajas en cuanto a disipación de calor y resistencia al estrés térmico en condiciones de climas cálidos y cálidos húmedos, de ahí su importancia en la ganadería tropical; pero esta particularidad aparentemente se asocia con una menor eficiencia en la conversión de alimento y velocidad de crecimiento, por lo que cada vez más, su utilización es en cruzamientos con otras razas de la subespecie *Bos taurus taurus* que como razas puras de *Bos taurus indicus*.

La suplementación con Zilpaterol hizo que se aumentara la EPB y las vaquillas control fueron más jóvenes ($P < 0.05$) a la PB. La administración de un β -agonista como el Zilpaterol a rumiantes en crecimiento, modifica la repartición de los nutrimentos ocasionando una disminución de la lipogénesis (incluso aumentan la lipólisis) y privilegian el crecimiento y síntesis de músculo, por lo que los animales crecen más rápido y ganan más peso, pero esta ganancia es más magra, lo que mejora la conversión alimenticia (Moloney y Beerman, 1996; Beermann y Dunshea, 2005; Cônsolo *et al.*, 2015).

Los resultados observados indican que para el inicio de la PB, más importante que el peso absoluto de la vaquilla es la composición de la masa corporal que está ganando; de ahí que aunque las tratadas llegaron con más peso y más EPB, no fueron diferentes a las control en GD, a pesar de que estas últimas eran más livianas. Las vaquillas tratadas alcanzaron la PB no solo con mayor edad y peso corporal, sino con mayor profundidad (cm) en los valores de MD ($P < 0.0001$), lo que fue parte de los supuestos del estudio y ha sido reportado por diversos autores: Lowe *et al.* (2012); Kononoff *et al.* (2013) y Rathmann *et al.* (2012).

La evaluación de la CC, con todo y ser un método subjetivo para evaluar la reserva corporal de los animales, proporciona elementos prácticos que permitan tomar decisiones para mejorar el comportamiento productivo y reproductivo del hato, porque la información disponible indica que se requiere un mínimo de grasa corporal para detonar procesos reproductivos como la PB en vaquillas (Zieba *et al.*, 2004) y de CC (Perry 2012). Ayres *et al.* (2009) en vaquillas Nelore, encontraron una alta correlación ($r = 0.82$ a 0.93) de la CC con GD; los mismos autores afirman que con

la evaluación visual de la CC se puede predecir la GD en ganado *Bos taurus indicus* en las diferentes etapas del ciclo de producción.

En general, las vaquillas que más se demoraron en alcanzar la PB, lo hicieron con mayor peso como se muestra en los resultados y en la correlación entre estas variables. Es manifiesto que en el caso de BHM, por encima de los señalizadores internos relacionados con el peso y composición corporal, prevaleció un efecto de estacionalidad asociado con los cambios de luz; por ello se observó la interacción RZ X EN para EPB y las diferencias entre RZ en los meses de presentación de PB.

El efecto de estacionalidad se manifestó en que las becerras SE iniciaron la PB de manera homogénea a través del año, en tanto que en las BHM 79.2% (19 de 24) iniciaron la PB en los meses en que las horas luz iban en aumento y sólo el 20.8% (5 de 24) lo hizo cuando las horas luz del día decrecían (Figura 10). La observación coincide con, Calderón (1994), que trabajó con vaquillas SE y BHM en el mismo sitio y reportó que vaquillas SE presentaron sus primeras ovulaciones a lo largo de todo el año, pero las BHM ovularon en un periodo que comprendió los meses de febrero a mayo (incremento de horas luz). Estos hallazgos, son apoyados por los resultados obtenidos en otros estudios (Villagómez *et al.*, 2000; Plasse *et al.*, 1968), donde se informó una tendencia estacional en la actividad reproductiva del ganado Cebú, indicando que el número de vacas en anestro o vaquillas con ovulaciones silenciosas es elevado de noviembre a enero, disminuía en febrero y es mínimo o nulo en marzo que es cuando las horas luz van aumentando. Villagómez *et al.* (2000), sugiere que en el ganado *Bos taurus indicus*, los días con disminución de las horas luz y las bajas temperaturas, producen un efecto inhibitorio sobre la

actividad sexual, a pesar de que se homogeneizó el consumo de alimento de los animales a lo largo del año.

En otros estudios con vacas Cebú, donde hubo observaciones por dos años en condiciones de alimentación homogénea a través del año en el trópico, se observó que el aumento de horas luz (transición de invierno a primavera) es una señal importante para el reinicio de la actividad sexual postparto, ya que hay una relación directa entre la tasa de concepción y el aumento de horas luz, aun cuando esto ocurre en épocas desfavorables para la producción de forrajes, lo que hace una llamada de atención para no confundir los efectos directos de la época con los indirectos que actúan a través de la disponibilidad de forrajes (Lozano *et al.*, 1987). Por lo antes mencionado, en este trabajo se corrobora que las becerras BHM fueron más susceptibles a señales ambientales por el cambio de horas luz para desencadenar los procesos neuroendocrinos asociados con el inicio de la PB, que las SE, situación que debe considerarse en la planificación de los programas de manejo reproductivo de bovinos en hatos con mezcla de RZ.

En el presente estudio las vaquillas nacidas en primavera tuvieron un mayor espesor de la GD a la PB que las nacidas en otoño, mientras que los niveles más elevados de leptina se encontraron en las nacidas en otoño, esto se debe básicamente a que tanto las BHM nacidas en ambas EN así como las SE de otoño iniciaron la PB con más peso y consecuentemente con una mayor cantidad de tejido adiposo reflejado en mayor LEP.

Para la variable de EPB se encontró un efecto de interacción RZ x EN, en el que las vaquillas BHM siempre alcanzaron la PB a mayor edad que la SE, pero en estas últimas las nacidas en otoño tuvieron una tendencia a ser más jóvenes, mientras que las BHM la tendencia fue al revés con las nacidas en otoño mostrando mayor EPB, lo cual puede estar explicado por el efecto de estacionalidad discutido en párrafos anteriores. Así mismo, se observó interacción de RZ x EN sobre LEP, donde las vaquillas BHM nacidas en otoño mostraron valores mayores a la PB que los otros grupos, lo que coincide con que tuvieron más GD, que es un indicador de la cantidad de grasa corporal y esta se relaciona con las concentraciones circulantes de leptina (Foote *et al.*, 2016).

Otra variable donde se identificó interacción RZ x EN fue PM/SC, en la que observamos que las SE nacidas en otoño mostraron mayor PM/SC a la PB, lo que probablemente favoreció que tuvieran menor EPB que los otros grupos. Diversos autores han sugerido que hay un fenómeno de compensación de edad con peso para el establecimiento de la PB (Arije y Wiltbank, 1971; González-Padilla *et al.*, 1975b; Greer *et al.*, 1983; Ferreira *et al.*, 2001). El mismo fenómeno se propone para explicar la interacción tratamiento x RZ para PM/SC, donde las vaquillas con menor EPB, las SE nacidas en otoño, fueron también las de mayor PM/SC, en este caso debido a los efectos del zilpaterol en la composición corporal. Se ha visto, que en el ganado *Bos taurus indicus*, la interacción genotipo-ambiente tiene un efecto significativo sobre el peso y edad de las becerras a la PB (Ferreira *et al.*, 2001).

Para evitar el efecto confundido de la época del año, que se asocia tanto con cambios de luz como con la producción de forraje y por ende la alimentación de los

animales, en el presente estudio se controló la alimentación en forma individual, garantizando que todos los animales mantuvieran ganancias diarias de peso homogéneas, conforme a su peso corporal, a través de las distintas estaciones del año con lo que se da mayor validez a la observación del efecto de estacionalidad en la PB de vaquillas BHM.

Uno de los señalizadores metabólicos que actúa de forma indirecta para el inicio de la PB es la leptina. Las LEP mostraron correlación con PPB ($r = 0.28$) y con SC ($r = 0.37$). Al igual que lo reportado por Locher *et al.* (2015) con vacas *Bos taurus taurus* no gestantes que encontraron una correlación positiva de la leptina con peso corporal ($r = 0.885$; $P < 0.001$) y CC ($r = 0.784$; $P < 0.001$); también observaron que un incremento de la CC tendía a estar acompañado por un área aumentada de adipocitos en tejido adiposo subcutáneo. La asociación entre LEP y CC en bovinos se ha observado por diversos autores: León *et al.* (2004) con vaquillas en condiciones tropicales; Lents *et al.* (2005) y Foote *et al.* (2016), que reportaron una correlación positiva de leptina y GD, pero no hallaron asociación entre leptina y MD.

Las LEP a la PB fueron diferentes entre RZ ($P < 0.0001$) y entre EN ($P = 0.0006$) en el cual las vaquillas BHM mostraron una mayor LEP que las SE, de hecho, hubo interacción entre RZ x EN y las únicas que mostraron diferencia fueron las vaquillas BHM nacidas en otoño (Figura 11), que por el efecto de estacionalidad ya señalado fueron las de mayor edad y peso. El comportamiento de las LEP fue de un aumento lineal conforme se acercaba el momento de PB (Figura 5). De tal modo, que los coeficientes de regresión lineal fueron significativos e indican un aumento promedio por día que se acercaba la PB de 35 pg/mL para el total de animales y al analizar

por separado RZ, en BHM fue de 45 pg/mL y en SE de 15 pg/mL, seguramente esas diferencias asociadas con las particularidades de la relación entre peso corporal y SC ya discutidas. De cualquier forma, el comportamiento observado de esta variable coincide con lo propuesto por Chelikani *et al.* (2009) en el sentido de que por el momento no hay evidencia de una transición abrupta en las concentraciones plasmáticas prepuberales de leptina y que las concentraciones plasmáticas de leptina pueden no ser un desencadenante crítico para la PB en vaquillas de crecimiento rápido, pero aparentemente son esenciales para la PB en vaquillas con tasas de crecimiento normal o restringido. En nuestro estudio el crecimiento fue moderado, con ganancias diarias promedio de alrededor de 500 g y es evidente que hubo otros factores importantes que, además de leptina, participaron en definir el momento de PB y probablemente leptina actúa como señal permisiva.

Este trabajo destaca la importancia de considerar las interacciones entre variables importantes, que se deben considerar para la planificación de los programas reproductivos en los hatos del trópico, particularmente las características raciales y de condición corporal de los animales y las épocas en que se pretende programar empadres, partos y la alimentación y manejo pos destete de las vaquillas de reemplazo, ya que no todos los animales se comportan igual, pero algunas de las variables medibles, asociadas con ese comportamiento, pueden ser predecibles y zootécnicamente remediables.

La popularización de las razas de ganado *Bos taurus indicus* en el trópico, se debe básicamente a su mayor adaptación a condiciones climáticas de altas temperaturas y a su mayor tolerancia a los ectoparásitos comunes en estas regiones (Utech *et*

al., 1978; López y Briceño, 2014). Las RZ cebuinas tienen mejor capacidad para regular su temperatura corporal en climas cálidos por su mayor superficie de piel, con más glándulas sudoríparas, más grandes y mayor densidad de anastomosis arteriovenosas (Hales *et al.*, 1978). Adicionalmente, cuentan con una capa de pelo que mejora la pérdida de calor por conducción y convección, y que reduce la absorción de radiación solar (Hansen, 2004). Pero como se muestra en este trabajo, el aumento de la SC, también implica mayor pérdida de energía cuando la temperatura ambiente se mantiene por debajo de la temperatura corporal y puede ser una característica que disminuya la precocidad para el inicio de la PB en los animales Cebú, condición que pudiera compensarse, hasta cierto punto, con intensificar la alimentación y acelerar las ganancias de peso pos destete. Por otro lado, la información que aquí se proporciona sugiere que es importante explorar con mayor detalle las observaciones reportadas y definir si vale la pena incorporar, en los programas de mejoramiento genético para ganado Cebú, variables como superficie de piel y estacionalidad reproductiva. Por otro lado habrá que estudiar, hasta donde, y en qué condiciones, deba recomendarse la intensificación de la alimentación de las vaquillas de reemplazo y potencialmente de todo el pie de cría, como remedio zootécnico a limitaciones que puedan mostrar algunos genotipos de bovinos, para mantener las ventajas de adaptabilidad a características ambientales no modificables y lograr una eficiencia competitiva en sus procesos reproductivos, en las condiciones del trópico de México y de muchas regiones de nuestro continente.

9. CONCLUSIONES

La superficie corporal juega un papel importante en el inicio de la pubertad de vaquillas. Se requiere un mínimo de masa de tejidos metabólicamente activos por unidad de superficie corporal y un mínimo de acumulación de grasa para que se detone el inicio de la pubertad, independientemente de la raza de que se trate.

El establecimiento de la pubertad es un fenómeno complejo, que depende de la interacción entre variables y señalizadores internos de los animales y de otros factores de su entorno, como los cambios de las horas luz, que afectan a las vaquillas Cebú.

Este trabajo indica que la menor precocidad de las vaquillas Brahman puede estar asociada con la mayor superficie corporal en comparación con las vaquillas Suizo Europeo y ratifica el efecto de los cambios de horas luz en fenómenos reproductivos en hembras Cebú, aun cuando se elimina el efecto indirecto de estacionalidad a través de la alimentación.

Por primera ocasión se documenta la relación de la superficie corporal con un fenómeno reproductivo en bovinos, en este caso con el establecimiento de la pubertad.

10. LITERATURA CITADA

1. Adams GP, Evans ACO, Rawling NC. Follicular waves and circulating gonadotrophins in 8-month-old prepubertal heifers. *J. Reprod. Fertil.* 1994; 100:27-33.
2. Ahima RS, and Flier JS. Leptin. *Annu. Rev. Physiol.* 2000; 62:413-437.
3. Ahima RS, and Hileman SM. Postnatal regulation of hypothalamic neuropeptide expression by leptin: implications for energy balance and body weight regulation. *Regul. Pept.* 2000; 92:1-7.
4. Agarwal SK, VogelK, Weitsman SR, and Magoffin DA. Leptin antagonizes the insulin-like growth factor-I augmentation of steroidogenesis in granulosa and theca cells of the human ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999; 84:1072-1076.
5. Agarwal R, Rout PK, and Singh SK. Leptin: A biomolecule for enhancing livestock productivity. *Indian J. Biotechnol.* 2009; 8:169-176.
6. Alberti P, Panea B, Sanudo C, Olleta JL, Rpoll G, Ertbjerg P, Christensen M, Gisle S, Failla S, Concetti S, Hocquette JF, Jailler R, Rudel S, Ranand G, Nute GR, Richardson RI, Williams JL. Live weight, body size and carcass characteristics of young bulls of fifteen European breeds. *Livestock Sci.* 2008; 114:19-30.
7. Allen CC, Alves BCR, Li X, Tedeschi LO, Zhou H, Paschal JC, Riggs PK, Braganeto UM, Keisler DH, Williams GL, and Amstalden M. Gene expression in the arcuate nucleus of heifers is affected by controlled intake of high-and low-concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 2012; 90:2222–2232.
8. Amstalden M, Alves BRC, Liu S, Cardoso RC, Williams GL. Neuroendocrine pathway mediating nutritional acceleration of puberty: insights from ruminant models. *Front. Endocrinol.* 2011; 22:1-12.
9. Arcella D, Baert K, Binaglia M, Gervelmeyer A, Innocenti ML, Ribo O, Steinkellner H, and Verhagen H. “Review of Proposed MRLs, Safety Evaluation of Products Obtained from Animals Treated with Zilpaterol and Evaluation of the Effects of Zilpaterol on Animal Health and Welfare.” *EFSA J.* 2016; 14(9):e04579. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4579>.

10. Arije GF and J.N. Wiltbank JN. Age and Weight at Puberty in Hereford Heifers. *J. Anim. Sci.* 1971; 33:401.
11. Atkins JA., Pohler KyG, and Michael F. Smith. Physiology and endocrinology of puberty in heifers. *Vet. Clin. Food Anim.* 2013; 29 (3):479–92. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.07.008>.
12. Avelino-Cruz JE, Flores A, Cebada J, Mellon PL, Felix R, and Monjaraz E. Leptin increases L-type Ca²⁺ channel expression and GnRH-stimulated LH release in LbT2 gonadotropes. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2009; 298:57–65. (doi:10.1016/j.mce.2008.09.003).
13. Ayres H, Ferreira RM, de Souza Torres-Júnior JR, Demétrio CGB, de Lima CG, and Baruselli PS. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos Indicus*) cows. *Livest. Sci.* 2009; 123(2–3):175–79. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.11.004>.
14. Barb CR, Hausman JG, and Ramsay GT. *Leptin in farm animals*. Springer US 2007; 26:263-308.
15. Barb CR, and Kraeling RR. Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animal. *Anim. Reprod. Sci.* 2004; 82:155-167. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.032>.
16. Bartha T, Sayed-Ahmed A, Rudas P. Expression of leptin and its receptor in various tissues of ruminants. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2005; 29:193-202.
17. Bavera, G. 2000. Factores que afectan la pubertad. *Curso de Producción Bovina de Carne*, cap. V. FAV UNRC. 1–3.
18. Beermann DH, Dunshea FR. Animal agriculture's future through biotechnology part 3. Metabolic modifiers for use in animal production. Issue paper 30. Council for Agricultural Science and Technology, Iowa.
19. Bjorbaek C, and Kahn BB. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent Prog. Horm. Res.* 2004; 59:305-331.
20. Blache D, Tellam RL, Chagas LM, Blackberry MA, Vercoe PE, Martin GB. Level of nutrition affects leptin concentrations in plasma and cerebrospinal fluid in sheep. *J. Endocrinol.* 2000; 165:625–37.
21. Black JL. Animal growth and its regulation. *J. Anim. Sci.* 1988; 66:1-22.

22. Bronson FH. Puberty in female mice is not associated with increases in either body fat or leptin. *Endocrinol.* 2001; 142:4758-4761.
23. Bucholtz DC, Manning J, Herbosa CG, Schillo KK, Foster DL. The energetics of LH secretion; a temporally-focused view of sexual maturation. Twenty-third Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Washington, D.C. 1993; (Abst. 349-10).
24. Calderón RRC. Cambios dinámicos de las estructuras ováricas y su relación con la progesterona sérica en becerras peripúberes *Bos taurus* y *Bos indicus*, mantenidas en clima tropical. [Tesis de Maestría], [Méx]. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. 1994.
25. Calderón RRC., Villa GA. y Lagunes LJ. Determinación ultrasonográfica de la primera ovulación: Asociación con la presentación de ciclos estrales regulares en vaquillas Cebú y Suizo Pardo mantenidas en el trópico. *Téc. Pecu. Méx.* 1996; 34(2):79-87.
26. Caravaca RFP, Castel GJM, Guzmán GJL, Delgado PM, Mena GY, Alcalde AMJ, et al. Bases de la Producción Animal. Catálogo de publicaciones, Universidad de Sevilla, España. 2005.
27. Carbone S, Szwarcfarb B, Reynoso R, Bollero G, Ponzo O, et al. Leptin stimulates LH secretion in peripubertal male rats through NMDA receptors. *Endocrinol. Res.* 2005; 31:387-396.
28. Cardoso RC, Alves BRC, Prezotto LD, Thorson JF, Tedeschi LO, Keisler DH, Park CS, Amstalden M, and Williams GL. Use of a stair-step compensatory gain nutritional regimen to program the onset of puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 2014; 92(7): 2942–49. <https://doi.org/10.2527/jas2014-7713>.
29. Castellano JM, Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, Roa J, Vigo E, Pineda R, Dieguez C, Aguilar E, Pinilla L, Tena-Sempere M. Expression of hypothalamic KiSS-1 system and rescue of defective gonadotropic responses by kisspeptin in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Diabetes.* 2006; 55:2602–2610.
30. Centner TJ, Alvey JC and Stelzleni AM. Beta agonists in livestock feed: Status health concerns, and international trade. *J. Anim. Sci.* 2014; 92:4234-4240.

31. Cheung CC, Thornton JE, Kuijper JL, Weigle DS, Clifton DK, et al. Leptin is a metabolic gate for the onset of puberty in the female rat. *Endocrinol.* 1997; 138:855-858.
32. Chelikani, PK, Ambrose DJ, Keisler DH, and Kennelly JJ. Effects of dietary energy and protein density on plasma concentrations of leptin and metabolic hormones in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 2009; 92(4):1430–41. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1385>.
33. Chilliard Y, Ferlay A, Faulconnier Y, Bonnet M, Rouel J, and Bocquier F. Adipose tissue metabolism and its role in adaptations to undernutrition in ruminants. *P. Nutr. Soc.* 2000; 59:127-134.
34. Clarke AM, Drennan MJ, McGee M, Kenedy DA, Evans RD, Berry DP. Intake, live animal scores/measurements and carcass composition and value of late-maturing beef and dairy breeds. *Livestock Sci.* 2009; 126:57-68.
35. Clarke IJ. Control of GnRH secretion: one step back. *Front Neuroendocrinol.* 2011; 32:367 – 375.
36. Cõnsolo NRB, Rodriguez FD, Goulart RS, Frassetto MO, Ferrari VB, and Silva LFP. Zilpaterol hydrochloride improves feed efficiency and changes body composition in nonimplanted Nellore heifers. *J. Anim. Sci.* 2015; 93(10):4948–55. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9291>.
37. Coppari R, Ichinose M, Lee CE, Pullen AE, and Kenny CD. The hypothalamic arcuate nucleus: a key site for mediating leptin’s effects on glucose homeostasis and locomotor activity. *Cell Metab.* 2005; 1:63-72.
38. Córdova IA. Efecto de factores climáticos sobre la conducta reproductiva bovina en los trópicos. Effect of climatic factor son bovine reproductive performance in the tropics. A review. *REDVET Rev. electrón. vet.* 2010; 1(11):1-12. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010110.html>.
39. Cundiff LV, Wheeler TL, Gregory KE, Shackelford SD, Koohmaraire M, Thallman RM, Snowder GD, Van Vleck LD. Preliminary Results from cycle VII of de cattle germplasm evaluation program at the Roman L. Hruska U.S. Meat Animal Research Center. Germplasm evaluation program progress report. 2004; 22:1-16.

40. Cunningham MJ, Clifton DK, and Steiner RA. Leptin's actions on the reproductive axis: perspectives and mechanisms. *Biol. Reprod.* 1999; 60:216-222.
41. Cushman RA, Kill LK, Funston RN, Mousel EM, and Perry GA. Heifer calving date positively influences calf weaning weights through six parturitions. *J. Anim. Sci.* 2013; 91:4486-4491.
42. David MP, and Wettemann RP. Relationship between weight at puberty and mature weight in beef cattle. Oklahoma Agricultural Experiment Station. 2009; 1-5.
43. Darwash AO, Lamming GE, and Woolliams JA. The phenotypic association between interval to post-partum ovulation and traditional measures of fertility in dairy cattle. *Anim. Sci.* 1997; 65:9–16.
44. Day ML, Imakawa K, Garcia-Winder M, Zalesky DD, Schanbacher BD, Kittok RJ, and Kinder JE. Endocrine mechanisms of puberty in heifers: Estradiol negative feedback regulation of luteinizing hormone secretion. *Biol. Reprod.* 1984; 31:332–341.
45. Day ML, Imakawa K, Zalesky DD, Kittok RJ, and Kinder JE. Effects of restriction of dietary energy intake during the pre-pubertal period on secretion of luteinizing hormone and responsiveness of the pituitary to luteinizing hormone-releasing hormone in heifers. *J. Anim. Sci.* 1986; 62:1641- 1648.
46. Delavaud C, Bocquier F, Chilliard Y, Keisler DH, Gertler A, and Kann G. Plasma leptin determination in ruminants: Effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. *J. Endocrinol.* 2000; 165:519–526.
47. Delavaud C, Ferlay A, Faulconnier Y, Boquier F, Kann G, Chilliard Y. Plasma leptin concentration in adult cattle: Effects of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. *J. Anim. Sci.* 2002; 80:1317-1328.
48. Delmore RJ, Hodgen JM, and Johnson BJ. Perspectives on the application of zilpaterol hydrochloride in the United States beef industry. *J. Anim. Sci.* 2010; 88:2825–2828.
49. Dunshea FR, D'Souza DN, Pethick DW, Harper GS, and Warner RD. Effects of dietary factors and other metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. *Meat Sci.* 2005; 71:8-38.

50. Deresz F, Jaume CM, de Carvalho MR, González C A. The effect of body weight at calving on milk production and reproductive performance of Friesian x Zebu heifers. *Anim. Prod.* 1987; 45:325–333.
51. Eisemann JH, and Huntington GB. Effects of dietary clenbuterol on net flux across the portal-drained viscera, liver and hindquarters of steer (*Bos taurus*). *Camp. Biochem. Physiol.* 1993; 104(3):401-406.
52. Eler JP, Silva JAV, Ferraz JBS, Dias F, Oliveira NH, Evans JL, and Golden BL. Genetic evaluation of the probability of pregnancy at 14 months for Nellore heifers. *J. Anim. Sci.* 2002; 80: 951-954.
53. Elmquist J, Bjorbaek C, Ahima R, Flier J, Saper C. Distributions of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain. *J. Comp. Neurol.* 1998; 395:535-47.
54. Elting EC. A formula for estimating surface area of dairy cattle. *J. Agric. Res.* 1926; 33(3):269–80.
55. Evans ACO, Adams GP, Rawlings NC. Endocrine and ovarian follicular changes leading up to first ovulation in prepuberal heifers. *J. Reprod. Fertil.* 1994; 100:187-194.
56. Fajersson P, Barradas HV, Roman-ponce H, Cook RM. The effects of dietary protein on age and weight at the onset of puberty in Brown Swiss and Zebu heifers in the tropics. *Theriogenol.* 1991; 35:845-855.
57. FDA. Freedom of information summary NADA 141-258 Zilmax (zilpaterol hydrochloride). August 10, 2006. Available at: <http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/Products/ApprovedAnimalDrugProducts/FOIADrugSummaries/ucm051412.pdf>.
58. Fei H, Okano HJ, Li C, Lee GH, Zhao C, Darnell R, et al. Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997; 94:7001-5.
59. Ferrel CL. Effects of postweaning rate of gain on onset of puberty and productive performance of heifers of different breeds. *J. Anim. Sci.* 1982; 55:1272-83.
60. Ferreira VCP, Penna VM, Bergmann JAG, Torres RA. Interação genótipo-ambiente em algumas características produtivas de gado de corte no Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2001; 53:385–392.
61. Fields MJ, Hentges Jr JF, and Cornelisse KW. Aspects of the sexual development of Brahman versus Angus Bulls in Florida. *Theriogenol.* 1982; 18:17-31.
62. Foster DL, and Hileman SM. Puberty in sheep. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction, Fourth Edition.* 2015; 1441-1485.

63. Foote AP, Tait RG, Keisler DH, Hales KE, and Freetly HC. Leptin concentrations in finishing beef steers and heifers and their association with dry matter intake, average daily gain, feed efficiency, and body composition. *Domest. Anim. Endocrinol.* 55. Elsevier Inc. 2016; 136–41. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2015.12.007>.
64. Freetly HC, Kuehn LA, Cundiff LV. Growth curves of crossbred cow sired by Hereford, Angus, Belgian blue, Brahman, Boran, and Tuli Bulls, and the fraction of mature body weight and height at puberty. *J. Anim. Sci.* 2011; 89:2373-9.
65. Friedman JM, and Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature.* 1998; 395 (6704):763–70. <https://doi.org/10.1038/27376>.
66. Frisch RE. Body weight, body fat and ovulation. *Treds. Edocrinol. Metab.* 1991; 2:191-7.
67. García MR, Amstalden M, Williams SW, Stanko RL, Morrison CD, Keisler DH, et al. Serum leptin and its adipocyte gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different season in cattle. *J. Anim. Sci.* 2002; 80:2158-2167.
68. Gasser CL, Grum DE, Mussard ML, Fluharty EL, Kinder JE, Day ML. Induction of precocious puberty in heifers I: enhanced secretion of Luteinizing Hormone. *J. Anim. Sci.* 2006a; 84:2035-41.
69. Gasser CL, Burke CR, Mussard ML, Behlke, Grum DE, Kinder JE, et al. Induction of precocious puberty in heifers II: Advanced ovarian follicular development. *J. Anim. Sci.* 2006b; 84: 2042-49.
70. Gasser, C. L., E. J. Behlke, D. E. Grum, and M. L. Day. 2006c. Effect of timing of feeding a high-concentrate diet on growth and attainment of puberty in early-weaned heifers. *J. Anim. Sci.* 84:3118–3122.
71. Geithovél F, Meysing A, and Brabant G. C-peptide and insulin, but not C19-steroids, support the predictive value of body mass index on leptin in serum of premenopausal women. *Hum. Reprod.* 1998; 13:547–553.
72. González-Padilla E, Wiltbank JN, and Niswender GD. Puberty in beef heifers. I. The interrelationship between pituitary, hypothalamic and ovarian hormones. *Journal of Animal Science.* 1975a; 40:1091-1104.

73. González-Padilla E, Ruíz DR y Wiltbank JN. Inducción y sincronización del estro en vaquillas prepúberes mediante la administración de estrógenos y un progestágeno. *Téc. Pecu.* 1975b; 17-23.
74. González-Padilla E. La aparición de la pubertad en vaquillas. *Ciencia Veterinaria.* 1978; 2:293-316.
75. Greer RC, Whitman RW, Staigmiller RB, and Anderson DC. Estimating the impact of management decisions on the occurrence of puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 1983; 56:30-39.
76. Hales JR, Fawcett AA, Bennett JW, Needham AD. Thermal control of blood flowthrough capillaries and arteriovenous anastomoses in skin of sheep. *Pflug. Arch.* 1978; 378:55–63.
77. Han SK and Herbison AE. Norepinephrine suppresses Gonadotropin-Releasing Hormone neuron excitability in the adult mouse. *Endocrinol.* 2008; 149(3): 1129–35. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1241>.
78. Hansen PJ. Physiological and cellular adaptations of Zebu cattle to thermal stress. *Anim. Reprod. Sci.* 2004; 82(83): 349–60. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.011>.
79. Hatefi A, Towhidi A, Zali A, Zeinoaldini S, Ganjkanluo M, Masoudi R, and Placencia A. Influence of dietary zilpaterol hydrochloride on feedlot performance, carcass traits, chemical composition of longissimus muscle, and plasma metabolites of castrated male goats. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2015; 39: 195-202.
80. Hegarty RS. Genotype differences and their impact on digestive tract function of ruminants: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture.* 2004; 44: 458–67. <https://doi.org/10.1071/EA02148>.
81. Hilton GG, Montgomery JL, Krehbiel CR, Yates DA, Hutcheson JP, Nichols WT, Streeter MN, Blanton Jr JR, and Miller MF. Effects of feeding zilpaterol hydrochloride with and without monensin and tylosin on carcass cutability and meat palatability of beef steers. *J. Anim. Sci.* 2009; 87, 1394-1406.
82. Honaramooz A, Aravindakshan J, Chandolia RK, Beard AP, Bartlewski PM, Pierson RA, Rawling NC. Ultrasonographic evaluation of the prepubertal

- development of the reproductive tract in beef heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 2004; 80:15-29.
83. Houseknecht KL, Baile CA, Matteri RL, and Spurlock ME. The biology of leptin: a review. *J. Anim. Sci.* 1998; 76:1405-1420.
84. Hogan AG, and Skouby CI. Determination of the surface area of cattle and swine. *J. Agricultural Research.* 1923; 19(25):419-430.
85. Iqbal J, Pompolo S, Murakami T, Grouzmann, and Sakurai T. Immunohistochemical characterization of localization of long-form leptin receptor (OB-Rb) in neurochemically defined cells in the ovine hypothalamus. *Brain Res.* 2001; 920:55-64.
86. Keane MG. Ranking of sire breeds and beef cross breeding of dairy and beef cows. Teagasc, Occasional Series. Grange Beef Research Centre. 2011; 9:1-35.
87. Kleiber M. Body size and metabolism. *Hilgardia.* 1932; 6:315–353.
88. Kleiber M. Body size and metabolic rate. *Physiol. Rev.* 1947; 4(27): 511-541.
89. Kiess W, Blum WF, and Aubert ML. Leptin, puberty and reproductive function: lessons from animal studies and observations in humans. *Eur. J. Endocrinol.* 1998; 138:26-29.
90. Kolokotronis T, Savage V, Deeds EJ, and Fontana W. 2010. Curvature in metabolic scaling. *Nat.* 2010; 464(7289):753–56. <https://doi.org/10.1038/nature08920>.
91. Kononoff PJ, Defoor PJ, Engler MJ, Swingle RS, James ST, Deobald HM, Deobald JL, and Marquess FLS. Impact of a leptin single nucleotide polymorphism and zilpaterol hydrochloride on growth and carcass characteristics in finishing steers. *J. Anim. Sci.* 2013; 91(10):5011–17. <https://doi.org/10.2527/jas2012-5229>.
92. Krogh A. The respiratory exchange of animals and man. London, 1916. *Anatomy and Physiology of capillaries.* Yale Univ. Press, 1929.
93. Laster DB, Glimp HA, and Gregory KE. Age and weight at puberty and conception in different breeds and breed crosses of beef heifers. *J. Anim. Sci.* 1972; 34:1031-1036.

94. Lawrence TE, Allen DM, Delmore RJ, Beckett JL, Nichols WT, Streeter MN, *et al.* Technical note: Feeding zilpaterol hydrochloride to calf-fed Holstein steers improves muscle conformation of top loin steaks. *MESC*. 2011; 88: 209-211.
95. León HV, Hernández-Cerón, Keisler DH, and Gutierrez CG. Plasma concentrations of leptin, insulin-like growth factor-I, and insulin in relation to changes in body condition score in heifers. *J. Anim. Sci.* 2004; 82(2): 445–51. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14974542>.
96. León VH, y Gutiérrez ACG. Leptina: interacción nutrición-reproducción. *Que hacer Científico en Chiapas*. 2008; 1(6):45-52.
97. Lehman MN, Merkley CM, Coolen LM, Goodman RL. Anatomy of the kisspeptin neural network in mammals. *Brain Res*. 2010; 1364:90-102.
98. Lents CA, Wettemann RP, White FJ, Rubio I, Ciccioli NH, Spicer LJ, Payton ME, and Keisler DH. Influence of nutrient intake and body fat on concentrations of insulin-like growth factor-I, insulin, thyroxine, and leptin in plasma of gestating beef cows. *J. Anim. Sci.* 2005; 83:586-596.
99. Lin J, Barb CR, Matteri RL, Kraeling RR, and Chen X. Long form leptin receptor mRNA expression in the brain, pituitary, and other tissues in the pig. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2000; 19:53-61.
100. Locher LS, Häussler L, Laubenthal SP, Singh J, Winkler A, Kinoshita Á, Kenéz, *et al.* 2015. Effect of increasing body condition on key regulators of fat metabolism in subcutaneous adipose tissue depot and circulation of nonlactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2015; 98(2):1057–68.
101. López-Carlos MA, Ramírez RG, Aguilera-Soto JI, Plascencia A, Rodríguez H, Aréchiga CF, Rincon RM, Medina-Flores CA, and Gutierrez-Banuelos H. Effect of two beta adrenergic agonists and feeding duration on feedlot performance and carcass characteristics of finishing lambs. *Livestock Sci.* 2011; 138, 251-258.
102. López HM, Briceño AE. Comparación de dos grupos raciales de bovinos en cuanto a incidencia de garrapatas (*Acari: Ixodidae*) y tórsalos (*Diptera: Oestridae*). *Nutrición Animal Tropical*. 2014; 8(2): 1–9.

103. López-Trujillo R, García-Elizondo R, and Ruiz-Zarate F. Fecha del primer parto y productividad de vacas Charolais en Coahuila, México. *Agron. Mesoam.* 2016; 27(2):377. <https://doi.org/10.15517/am.v27i2.21287>.
104. Lozano DRR, Aspron PMA, González-Padilla E, Vásquez PCG. Estacionalidad reproductiva en vacas *Bos indicus* en el trópico mexicano. *Téc. Pec. Méx.* 1987; 2(25):192-205.
105. Lowe BK, Mckeith RO, Segers JR, Safko JA, Froetschel MA, Stewart Jr RL, Stelzleni AM, Streeter MN, Hodgen JM, and Pringle TD. The effects of zilpaterol hydrochloride supplementation on market dairy cow performance, carcass characteristics, and cutability. *Professional Animal Scientist.* 2012; 28 (2). Elsevier Masson SAS: 150–57. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30335-1](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30335-1).
106. Luque RM, Kineman RD, Tena-Sempere M. Regulation of hypothalamic expression of KiSS-1 and GPR54 genes by metabolic factors: Analyses using mouse models and a cell line. *Endocrinol.* 2007; 148(10):4601-4611. doi:10.1210/en.2007-0500.
107. Madani T, Yakhlef H and Marie M. Effect of age at first calving on lactation and reproduction of dairy cows reared in semi arid region of Algeria. 2008; 92(20). Retrieved May 31, 2018, from <http://www.lrrd.org/lrrd20/6/mada20092.htm>
108. McNab BK. An analysis of the factors that influence the level and scaling of mammalian BMR. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 2008; 151:5–28.
109. Malven PV, Haglof SA, and Degroot H. Effects of intracerebral administration of neuropeptide-Y on secretion of luteinizing hormone in ovariectomized sheep. *Brain Res. Bull.* 1992; 28:871-875.
110. Maquivar M, y Day ML. Estrategias nutricionales y hormonales para la inducción a la pubertad en vaquillonas de carne y su impacto en la fertilidad. *Rev. Taurus* 2011; 13(52):4-33.
111. Maquivar MG. Nutritional regulation of precocious puberty in heifers. [Tesis Doctorado], [U.S.A]. The Ohio State University. 2011.

112. Martin LC, Brinks JS, Bourdon RM, Cundiff LV. Genetic effects on beef heifer puberty and subsequent reproduction. *J. Anim. Sci.* 1992; 70:4006-4017.
113. McDowell RE, Wilk JC, and Talbott CW. Economic viability of crosses of *Bos taurus* and *Bos indicus* for dairying in warm climates. *J. Dairy Sci.* 1996; 79(7): 1292–1303. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76484-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76484-6).
114. McGee M, Keane MG, Neilan R, Moloney AP, Caffrey PJ. Production and carcass traits of high dairy genetic merit Holstein, standard dairy genetic merit Friesian and Charolais x Holstein-Friesian male cattle. *Irish J. Agr. Food Res.* 2005; 44:215-231.
115. Mersmann HJ. Overview of the effects of beta-adrenergic receptor agonists on animal growth including mechanism of action. *J. Anim. Sci.* 1998; 76:160-172.
116. Mitchell HH. The effect of the amount of feed consumed by cattle on the utilization of its energy content. *J. Agr. Res.* 1932; 3(45):163-191.
117. Messenger S, Chatzidaki EE, Hendrick AGDMA, Zahn D, Dixon JD, Thresher RR, Malinge I, Lomet D, Carlton MB, Colledge WH, Caraty A, and Aparicio SA. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *PNAS USA.* 2005; 102:1761-1766.
118. Moloney AP, Beermann DH. Mechanisms by which β -adrenergic agonists alter growth and body composition in ruminants. In: Enne G, Kuiper HA, Valentini, A. (Eds.), *Residues of veterinary drugs and mycotoxins in animal products*. Pers, Wageningen. 1996;124-136.
119. Moran C, Quirke JF, and Roche JF. Puberty in heifers: a review. *Anim. Reprod. Sci.* 1989; 18:167-182.
120. Morris DL, Tyner CL, Morris PG, Forgason RL, and Forganson JL. Correlation of scrotal circumference and age in American Brahman Bulls. *Theriogenol.* 1989; 31:489-494.
121. Nagatani S, Guthikonda P, Thompson RC, Tsukamura H, Maeda KI & Foster DL. Evidence for GnRH regulation by leptin: leptin administration prevents reduced pulsatile LH secretion during fasting. *Neuroendocrinol.* 1998; 67:370–376. (doi:10.1159/000054335)

122. Nagatani S, Zeng Y, Keisler DH, Foster DL, Jaffe CA. Leptin regulates pulsatile luteinizing hormone and growth hormone secretion in the sheep. *Endocrinol.* 2000; 141:3965-75.
123. Nakada K, Moriyoshi M, Nakao T, Watanabe G, Taya K. Changes in concentrations of plasma immunoreactive follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, E₂-17 β , testosterone, progesterone and inhibin in heifers from birth to puberty. *Domest. Anim. Endocrin.* 2000; 18:57-69.
124. Nakao K, Iwata K, Takeshita T, and Ozawa H. Expression of hypothalamic kisspeptin, neurokinin B, and dynorphin A neurons attenuates in female zucker fatty rats. *Neurosci. Lett.* 2018; 665: 135–39. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.12.002>.
125. Navarro VM, Ruiz-Pino F, Sanchez-Garrido MA, Garcia-Galiano D, Hobbs SJ, Manfredi-Lozano M, Leon S, Sangiao-Alvarellos S, Castellano JM, Clifton DK et al. Role of neurokinin B in the control of female puberty and its modulation by metabolic status. *J. Neurosci.* 2012; 32:2388–2397. (doi:10.1523/JNEUROSCI.4288-11.2012).
126. Nepomuceno DD, Pires VA, Ferraz VCM, Biehl VM, Gonçalves RSJ, Moreira ME, and Day LM. Effect of pre-partum dam supplementation, creep-feeding and post-weaning feedlot on age at puberty in Nellore heifers. *Livest. Sci.* 2017; 195:58–62. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.11.008>.
127. Nestor CC, Briscoe AMS, Davis SM, Valent M, Goodman RL, Hileman SM. Evidence of a role for kisspeptin and neurokinin B in puberty of female sheep. *Endocrinol.* 2012; 153:2756-2765.
128. Nogueira GP. Puberty in South American *Bos Indicus* (Zebu) Cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 2004; 361–72. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.007>.
129. NRC (National Research Council). *Nutrient Requirements of Beef Cattle: 7 a.* Revised Ed. Ed. National Academy Press. Washington D.C. USA 2000. p. 232.
130. Ojeda RS, Dubay C, Lomniczi A, Kaidar G, Matagne V, Sandau US, Dissen GA. Gene networks and the neuroendocrine regulation of puberty. *Mol Cell Endocrinol.* 2010; 324: 3-11.

131. Ortiz SJA. Evaluación del polimorfismo del gen leptina en bovinos en el Sistema doble propósito en Chiapas México. [Tesis de doctorado]. Postgrado en recursos genéticos y productividad ganadería. Montecillo, Texcoco Edo. México. 2011.
132. Oyedipe EO, Osori DIK, Akerejola O, Saror D. Effect of level of nutrition on onset of puberty and conception rates of Zebu heifers. *Theriogenol.* 1982; 18:525-539.
133. Padmanabhan V, McNeilly AS. Is there an FSH-releasing factor?. *Reprod.* 2001; 121:21-30.
134. Pereira GR, Barcellos JOJ, Sessim AG, Tarouco JU, Feijó FD, Neto JB, Prates ER, and Canozzi MEA. Relationship of post-weaning growth and age at puberty in crossbred beef heifers. *R. Bras. Zootec.* 2017; 46(5):413–20. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000500007>.
135. Pereyra Gomes de Freitas S. Desempenho de novilhas expostas á reproducao aos 14/15 meses de idade. Tesis doctoral. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Brasil. 2005.
136. Perry GA. Physiology and endocrinology symposium: harnessing basic knowledge of factors controlling puberty to improve synchronization of estrus and fertility in heifers. *J. Anim. Sci.* 2012; 90(4):1172–82. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4572>.
137. Perry GA. Factors affecting puberty in replacement beef heifers. *Theriogenol.* 2016; 86:373-378.
138. Prando JA. Estudio de asociación entre marcadores genéticos y precocidad sexual en el macho bovino. [Tesis de doctorado], Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de la Plata, [Arg]. 2015.
139. Post TB, Reich M. Puberty in tropical breeds of heifers as monitored by plasma progesterone. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 1980; 13:61–62.
140. Pierson R.A. and Ginther O.J. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenol.* 1988; 29:21-37.
141. Pierson R.A. and Ginther O.J. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenol.* 1984; 21:495-504.

142. Plasse D, Warnick AC, and Koger M. Reproductive behavior of *Bos indicus* females in a subtropical environment. I. Puberty and ovulation frequency in Brahman and Brahman x British heifers. *J. Anim. Sci.* 1968; 27:94.
143. Rathmann RJ, Bernhard BC, Swingle RS, Lawrence TE, Nichols WT, Yates DA, Hutcheson JP, Streeter MN, Brooks JC, Miller MF, and Johnson BJ. Effects of zilpaterol hydrochloride and days on the finishing diet on feedlot performance, carcass characteristics, and tenderness in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 2012; 90:3301–3311.
144. Rawlings NR, Evans ACO, Honaramooz A, Bartlewski PM. Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. *Anim. Reprod. Sci.* 2003; 78:259-270.
145. Reeves JJ, Rantanen NW, and Hauser M. Transrectal real-time ultrasound scanning of the cow reproductive tract. *Theriogenol.* 1984. 21:485-494.
146. Reynoso R, Ponzo OJ, Szwarcfarb B, Rondina D, Carbone S, Rimoldi G, Scacchi P, and Moguilevsky JA. Effect of leptin on hypothalamic release of GnRH and neurotransmitter amino acids during sexual maturation in female rats. *Exp Clin Endocr. Diab.* 2003; 111:274–277. (doi:10.1055/s-2003-41285).
147. Reynolds W L, de Rouen TM and High JW Jr. The age and weight at puberty of Angus, Brahman and zebu cross heifers. *J. Anim. Sci.* 1963; 22: 243 (Abstract).
148. Richards MW, Spitzer JC and Warner MB. Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 1986; 62: 300-306.
149. Richet C. *La Chaleur Animale*. Paris, 1889.
150. Rincker LED, VandeHaar MJ, Wolf CA, Liesman JS, Chapin LT, Nielsen SW. Effect of intensified feeding of heifer calves on growth, pubertal age, calving age, milk yield, and economics. *J. Dairy Sci.* 2011; 94:3554-3567.
151. Roa J, Aguilar E, Dieguez C, Pinilla L, Tena-Sempere M. New frontiers in kisspeptin/GPR54 physiology as fundamental gatekeepers of reproductive function. *Frontiers in Neuroendocrinology.* 2008; 29: 48–69.

152. Román PH. Potencial de producción de los bovinos en el trópico de México. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias SARH. Centro Experimental Pecuário Paso del Toro, Veracruz, México. *Ciencia Veterinaria*.1981; (3):394-430.
153. Rodrigues HD, Kinder JE, Fitzpatrick LA. Treatment with 17 β - oestradiol does not influence age and weight at puberty in *Bos indicus* heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 1999; 56:1–10.
154. Rodríguez YY, y Martínez GGE. Efecto de la edad al primer parto, grupo racial y algunos factores ambientales sobre la producción de leche y el primer intervalo entre partos en vacas doble propósito. *Rev. Fac. Cs. Vets. UCV.* 2010; (2) 51:79-91.
155. Ruiz-Cortes ZT, Men T, Palin MF, Downey BR, and Lacroix DA. Porcine leptin receptor: molecular structure and expression in the ovary. *Mol. Reprod. Dev.* 2000; 56:465-474.
156. Ruiz-Cortes ZT, Martel-Kennes Y, Gevry NY, Downey BR, and Palin MF. Biphasic effects of leptin in porcine granulosa cells. *Biol. Reprod.* 2003; 68:789-796.
157. Salles VMS, da Silva CS, Salles FA, Roma LC, El Faro L, Mac Lean BPA, Lins de Oliveira CE, and Martello SL. Mapping the body surface temperature of cattle by infrared thermography. *J. Therm. Biol.* 2016; 62 (October). Elsevier: 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2016.10.003>.
158. San Miguel A, del Campo F, Mazón MA, Alonso N, Calvo B, Martín-Gil FJ, et al. Estructura, funciones e importancia clínica de la leptina. *Quím. Clín.* 2006; 25(1): 5-9.
159. Sansinanea SA, Cerone IS, Zonco I, García C, and Auza N. Serum leptin levels in cattle with different nutritional conditions. *Nutr. Res.* 2001; 21 (7):1045–52. [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(01\)00307-4](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(01)00307-4).
160. SAS. Statistical Analysis System Institute Inc, Cary, NC, USA. 2002.
161. Schams D, Schallenberger E, Gombe S, and Karg H. Endocrine patterns associated with puberty in male and female cattle. *J. Reprod. Fert.* 1981; 30:103.110.
162. Schneider JE, Zhou D, Blum RM. Leptin and metabolic control of reproduction. *Horm. Behav.* 2000; 37:306-326.

163. Seminara SB, Messenger S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno JS Jr, J.K. Shagoury JK, Bo-Abbas Y, Kuohung W, Schwinof KM, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Kaiser UB, Slaugenhaupt SA, Gusella JF, O'Rahilly S, Carlton MB, Crowley WF Jr, Aparicio SA, and Colledge WH. The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N. Engl. J. Med.* 2003; 349:1614-1627.
164. Short RE, Bellows RA. Relationships among weight gains, age at puberty and reproductive performance in heifers. *J. Anim. Sci* 1971; 32:127-31.
165. SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) de la SAGARPA. Boletín semanal núm. 25. 2013.
166. Sieg AE, O'Connor MP, McNair JN, Grant BW, Agosta SJ, and Dunham AE. Mammalian metabolic allometry: do intraspecific variation, phylogeny, and regression models matter? *Am. Nat.* 2009; 174:720–733.
167. Sirois J, and Fortune JE. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.* 1988. 39:308-317.
168. Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield LA, Burn P, and Baskin DG. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J. Clin. Invest.* 1996; 98:1101-6.
169. Smith GD, Jackson LM, Foster DL. Leptin regulation of reproductive function and fertility. *Theriogenol.* 2002; 57:73-86.
170. Smith JT, Acohido BV, Clifton DK, Steiner RA. KiSS-1 neurones are direct targets for leptin in the ob/ob mouse. *J. Neuroendocrinol.* 2006; 18:298–303.
171. Smith JT, Clay CM, Caraty A, Clarke IJ. KiSS-1 messenger ribonucleic acid expression in the hypothalamus of the ewe is regulated by sex steroids and season. *Endocrinol.* 2007; 148:1150-1157
172. Soárez de Lima Lapetina JM. Modelo bioeconómico para la evaluación del impacto de la genética y otras variables sobre la cadena cárnica vacuna en Uruguay. [Tesis de doctorado], [Esp]. Universidad Politécnica de Valencia. 2009.
173. Sorensen AM, Hansel W, Hough WH, Armstrong DT, McEntee K, Breatton RW. Causes and prevention of reproductive failures in dairy cattle: I. Influence of

- underfeeding and overfeeding on growth and development of Holstein heifers. Cornell University Agric. Exp. Stn. Bull. 1959, Bulletin 936.
174. Spicer LJ. Leptin: a possible metabolic signal affecting reproduction. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2001; 21:251-270.
175. Spicer LJ, Francisko CC. The adipose obese gene product, leptin: evidence of a direct inhibitory role in ovarian function. *Endocrinol.* 1997; 138: 3374–3379.
176. Spicer LJ, Francisko CC. 1998. Adipose obese gene product leptin, inhibits bovine ovarian thecal cells steroidogenesis. *Biol. Reprod.* 1998; 58: 207–212.
177. Stewart TS, Long CR, and Cartwright. Characterization of cattle of a five-breed diallel. III. Puberty in Bulls and heifers. *J. Anim. Sci.* 1980; 50:808-820.
178. Stahringer R. Anestro posparto y pubertad en bovinos de cría. INTA EEA Colonia Benítez, Chaco, Argentina. 2003. <http://www.inta.gov.ar/benitez/info/documentos/reprod/pdf/23%20anesparto.pdf>
179. Strydom PE, Flylick L, Montgomery JL, and Smith MF. The comparison of three β – agonists for growth performance, carcass characteristics and meat quality of feedlot cattle. *Meat. Sci.* 2009; 81:557-564.
180. Sullivan SD, and Moetner SM. Gamma-aminobutyric acid neurons integrate and rapidly transmit permissive and inhibitory metabolic cues to gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinol.* 2004; 145:1194-1202.
181. Swett WW, Matthews CA, McDowell RE. Sindhi-Jersey and Sindhi-Holstein crosses: their external form and internal anatomy compared with those of purebred Jerseys and Holsteins. *Tech. Bull.* 1961; USDA 1236.
182. Tamayo SL. Geografía moderna de México 9ª Edición México. Trillas. 1980; 109-114.
183. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, and Culpepper J. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell.* 1995; 83:1263-1271.
184. Tartaglia LA. The leptin receptor. *J. Biol. Chem.* 1997; 272:6093-6096.
185. Tena-Sempere M. Deciphering puberty: novel partners, novel mechanisms. *Eur. J. Endocrinol.* 2012; 167:733-747.
186. Thrift FA, Sanders JO, Brown AH, Herring AD, Riley DG, DeRouen SM. Review: preweaning, postweaning, and carcass trait comparisons for progeny

- sired by subtropically adapted beef sire breeds at various US locations¹²³. The Professional Animal Scientist. 2010; 26(5):451–73. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30633-1](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30633-1).
187. Tortonese DJ. 1986. Pubertad en hembras bovinas, Determinación de la edad a la pubertad mediante dosaje de progesterona por radioinmunoensayo en cuatro grupos genéticos bovinos, su correlación con peso y alzada. [Tesis de Doctorado], [Arg]. Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Veterinarias. 1986.
 188. U.S. Food and Drug Administration (FDA). New animal drugs; Zilpaterol final rule. Fed. Regist. 2006; 71:53005–53006.
 189. Utech KBW, Wharton RH, Kerr JD. Resistance to *Boophilus microplus* (Canestrini) in different breeds of cattle. Crop and Pasture Sci. 1978; 29(4):885–895.
 190. Vahedi V, Towhidi A, Zare Shahneh A, Sadeghi M, Zamani F, and Dunshea FR. Effects of β -agonist zilpaterol hydrochloride feeding and supplementation period on growth and carcass characteristics of Lori-Bakhtiari lambs. Small Ruminant Res. 119 (1–3). Elsevier B.V. 2014; 65–71. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.01.005>.
 191. Villagómez AME, Castillo RH, Villa-Godoy A, Heriberto Román PH, Vázquez PC. Influencia estacional sobre el ciclo estral y el estro en hembras cebú mantenidas en clima tropical. Téc. Pecu. Méx. 2000; 38(2): 89–103.
 192. Williams GL, Amstalden M, Garcia MR, Stanko RL, Nizielski. Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. Domest. Anim. Endocrinol. 2002; 23:339-349.
 193. Williams LG, Amastalden TM. Understanding postpartum anestrus and puberty in the beef female. Proceedings, applied reproductive strategies in beef cattle. San Antonio, TX. 2010; 58: 71.
 194. Wiltbank JN, Roberts S, Nix J, Rowden L. Reproductive performance and profitability of heifers fed to weight 272 or 318 kg at the start of the first breeding season. J. Anim. Sci. 1985; 60:25-34.

195. Wiltbank MC, Gümen A y Sartori R. Clasificación fisiológica de condiciones anovulatorias en bovinos. Resumen del V Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, Argentina. 2003; 19-46.
196. Walker DM. Nutrition of preruminants. In: Church DC, editor. Digestive physiology and nutrition of ruminants. 2nd ed. Nutrition, vol. 2. Oregon: Oxford Press. 1979; 258–80.
197. Webster AJF. Energy metabolism and requirements. In: Church DC, editor. Digestive physiology and nutrition of ruminants. 2nd ed. Nutrition, vol. 2. Oregon: Oxford Press. 1979; 210–29.
198. Werth LA, Azzam SM, Nielsen MK, and Kinder JE. Use of a simulation model to evaluate the influence of reproductive performance and management decisions on net income in beef production. *J. Anim. Sci.* 1991; 69:4710-4721.
199. Yu WH, Kimura M, Walezewska A, Karanath S, and McCann SM. Role of leptine in hypothalamic pituitary function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997; 92:1023-1028.
200. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, and Leopold L. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nat.* 1994; 372:425-432.
201. Zieba DA, Amstalden M, Morton S, Maciel MN, Keisler DH, and G L Williams GL. Regulatory Roles of Leptin at the Hypothalamic-Hypophyseal Axis before and after Sexual Maturation in Cattle. *Biol. Reprod.* 2004; 71(3): 804–12. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.028548>.
202. Zieba, D. A., M. Amstalden, and G. L. Williams. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: A comparative review. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2005; 29(1):166–85. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.02.019>.