



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA
SALUD ANIMAL

**EFFECTO DE GnRH Y PROGESTERONA NATURAL
EN LA DINÁMICA FOLICULAR Y TASA DE
OVULACIÓN EN VACAS ANÉSTRICAS *Bos indicus***

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A:

VÍCTOR HUGO SEVERINO LENDECHY

TUTOR:
COMITÉ TUTORAL:

DR. FELIPE MONTIEL PALACIOS
DR. CARLOS GALINA HIDALGO
DR. JAIME GALLEGOS SÁNCHEZ

MÉXICO, D.F.

2007



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.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES:

VICTOR HUGO Y MARIA EDITH

Doy gracias nuevamente a Dios por permitirnos compartir un triunfo más en mi vida y carrera profesional, quisiera expresar de la forma más precisa las emociones que experimento al recordar todos los momentos que hemos tenido que vivir para poder celebrar hoy. Sin embargo, muchas veces no es posible transmitir ya sea de forma escrita o verbal lo que un ser humano debe enfrentar para poder alcanzar sus metas y sueños, o tal vez la apreciación de lo que uno vive y afronta para algunos es fácil y para otros difícil, pero nadie más que uno mismo y las personas que están a tu lado en el momento de los acontecimientos saben por lo que se tuvo que pasar. Otra apreciación sería también desde el punto de vista de quien vive el reto que se impuso así mismo para alcanzar un fin.

Yo no se, si otras personas que han dirigido sus pasos por senderos similares al mío, el cual es del estudio y la superación personal hayan sentido o experimentado emociones como las que yo pase para poder obtener lo que hoy tengo, emociones tales como; miedo, frustración, coraje, impotencia, desesperación y muchas más sensaciones las cuales creo que si no eres lo suficientemente inteligente de manejar y controlar son capaces de volverte un ser temeroso, acomodaticio, advenedizo y oportunista o en su defecto que sería lo mejor hacerte un hombre más reflexivo, tenaz, constante y que vive su realidad día a día a pesar de que esta sea cruel, cruda y desgastante emocionalmente y que no importando esto sigue adelante, encontrando alternativas de solución a sus problemas, no engendrando odios ni resentimientos hacia nada ni nadie que haya significado un reto de una u otra forma en tu vida, ¿Por qué, acaso la vida misma no es un reto? Al cual hay que saber enfrentar sin miedo al fracaso, dando todo de

si y no perdiendo de vista esa luz en el horizonte que te ayuda a no errar tu camino y que te dice que tan lejos te encuentras de tu meta.

Yo no se queridos padres, si esto que escribo sea bueno o malo, lo que si se y tengo siempre presente, es el que gracias a Dios y a ustedes he podido seguir alcanzando mis metas.

Hoy como siempre les dedico este triunfo a los dos, pero quiero hacer un reconocimiento de manera muy especial a mi madre, la cual a pesar de todo y todos nos ha inculcado a mi hermano y a mi la superación constante, la disciplina y el amor por todo lo que hagamos en la vida tanto personal como profesional.

Que Dios bendiga a mis padres, mi tesoro más preciado y que nos permita seguir compartiendo tanto lo bueno como lo malo.

LOS AMO

VICTOR HUGO

A MI HERMANO:

JOSE JUAN

Amado hermano, te agradezco infinitamente que compartas tu tiempo y tu vida conmigo, me siento muy orgulloso de ti y de tu superación constante, la cual se, te ayudara a seguir formándote el carácter no solo como profesionista, si no como un hombre de bien.

Deseo de todo corazón que podamos seguir compartiendo momentos tanto buenos como malos, no importando a donde nos lleve el río de la vida, por que cuando hay amor, apoyo y comprensión incondicional no importan las distancias ni nada.

Sabemos que nos tenemos el uno al otro y que siempre vamos a estar apoyándonos mutuamente, porque no solo compartimos un propósito en la vida el de ser hombres buenos y de buenas costumbres, si no también el de tener la misma sangre.

Dios te bendiga querido hermano, te amo.

VICTOR HUGO

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Felipe Montiel Palacios** por su apoyo incondicional y sus consejos que me hicieron exigirme más a mi mismo y buscar alternativas de solución a mis problemas.

Al **Dr. Carlos Galina Hidalgo** por su apoyo y consejos, que me hicieron desarrollar paciencia y constancia.

Al **Dr. Jaime Gallegos Sánchez** por su apoyo y orientación, lo cual fortaleció mi enseñanza y preparación.

A la **M.C. Adriana Ducoing** por su generoso apoyo de forma incondicional no solo de tipo académico, si no también por su amistad que me hizo reflexionar, valorar mis retos y ver nuevos horizontes.

A la **M.V.Z. Olga Liliana Rubio Mejia** cuya presencia y apoyo siempre fue incondicional, oportuno y porque al haberla conocido me ofreció no solo su amistad si no su afecto el cual me hizo ver de otra forma la vida.

Al **M.V.Z. Víctor Fernando Torres Aburto** amigo y colega entrañable el cual siempre me ha ofrecido su amistad incondicional y desinteresada, al igual que su apoyo moral.

Al **M.C. Martín Maquivar** cuyos consejos me ayudaron a encontrar la solución a muchos de mis problemas.

Al **M.C. Agustín Rosiles** el cual me abrió una puerta a un nuevo mundo de conocimientos.

Al **Sr. Miguel García** por su hospitalidad y generosidad al habernos facilitado su rancho para la realización de esta investigación.

ÍNDICE

| | Pág. |
|---|-------------|
| LISTA DE FIGURAS | viii |
| LISTA DE CUADROS | viii |
| LISTA DE GRÁFICAS | ix |
| RESUMEN | x |
| ABSTRACT | xi |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA | 4 |
| 2.1 ANESTRO POSPARTO..... | 4 |
| 2.2 FACTORES QUE AFECTAN EL ANESTRO POSPARTO..... | 7 |
| 2.2.1 Nutrición..... | 7 |
| 2.2.2 Amamantamiento..... | 12 |
| 2.2.3 Época del año..... | 18 |
| 2.2.4 Efecto de hormonas exógenas..... | 19 |
| 2.2.5 Raza..... | 21 |
| 2.2.6 Edad al parto..... | 21 |
| 2.2.7 Presencia del toro..... | 22 |
| 2.3 MÉTODOS PARA RESOLVER EL ANESTRO POSPARTO..... | 22 |
| 2.3.1 Sincronización del desarrollo folicular y la ovulación utilizando GnRH y prostaglandinas (PGF2 α)..... | 24 |
| 2.3.2 Tratamientos con dispositivos intravaginales para sincronizar el desarrollo folicular y la ovulación..... | 26 |
| 2.3.3 Tratamientos utilizando implantes de aplicación subcutánea auricular para la inseminación artificial a tiempo fijo..... | 29 |

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 2.3.4 | Sincronización con acetato de melengestrol (MGA) y prostaglandinas (PGF2 α)..... | 31 |
| 2.4 | ESTUDIO DE LA DINÁMICA FOLICULAR DURANTE EL CICLO ESTRAL..... | 32 |
| 2.5 | PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DEL GANADO CEBUÍNO..... | 35 |
| III. | HIPÓTESIS | 37 |
| IV. | OBJETIVOS | 37 |
| V. | MATERIALES Y MÉTODOS | 38 |
| 5.1 | LOCALIZACIÓN..... | 38 |
| 5.2 | CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO..... | 38 |
| 5.3 | CARACTERÍSTICAS Y MANEJO DE LOS ANIMALES EXPERIMENTALES..... | 38 |
| 5.3.1 | Condición corporal..... | 39 |
| 5.4 | TRATAMIENTOS..... | 39 |
| 5.4.1 | Sincronización de la ovulación..... | 39 |
| 5.4.2 | Destete Temporal..... | 40 |
| 5.4.3 | Evaluación ultrasonográfica de la actividad folicular..... | 40 |
| 5.5 | ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... | 40 |
| VI. | RESULTADOS | 42 |
| VII. | DISCUSIÓN | 55 |
| VIII. | CONCLUSIONES | 61 |
| IX. | LITERATURA CITADA | 62 |

LISTA DE FIGURAS

| | | Pág. |
|-----------------|--|-------------|
| Figura 1 | Esquema del protocolo Ovsynch para sincronizar el desarrollo folicular, la ovulación y realizar la inseminación artificial a tiempo fijo..... | 25 |
| Figura 2 | Esquema del protocolo CO-Synch para sincronizar el desarrollo folicular, la ovulación y realizar la inseminación artificial a tiempo fijo..... | 25 |

LISTA DE CUADROS

| | | |
|-----------------|---|----|
| Cuadro 1 | Condiciones previas al estudio y distribución de las hembras <i>Bos indicus</i> anéstricas en los tratamientos y/o grupos; Grupo=1 (GnRH+CIDR+GnRH), Grupo=2 (GnRH+CIDR), Grupo=3 (CIDR+GnRH), Grupo=4 (CIDR), Grupo=5 (Testigo)..... | 45 |
| Cuadro 2 | Número de folículos, valores mínimos, máximos y promedio del diámetro folicular entre los diferentes grupos experimentales..... | 46 |
| Cuadro 3 | Tasa de ovulación de vacas <i>Bos indicus</i> anéstricas para los diferentes tratamientos..... | 47 |
| Cuadro 4 | Promedio de horas para la ovulación de vacas <i>Bos indicus</i> anéstricas después del retiro del CIDR según el tratamiento aplicado mediante la función de sobrevivencia del método Kaplan-Meier..... | 53 |

LISTA DE GRÁFICAS

| | Pág. |
|--|-------------|
| Gráfica 1 Desarrollo folicular de la vaca número 17 donde se presentó ovulación intermedia y formación de cuerpo lúteo..... | 48 |
| Gráfica 2 Desarrollo folicular de la vaca número 32 donde se presentó ovulación intermedia y formación de cuerpo lúteo..... | 49 |
| Gráfica 3 Desarrollo folicular de la vaca número 50 donde se presentó ovulación intermedia y formación de cuerpo lúteo..... | 50 |
| Gráfica 4 Estimación de la ovulación en vacas <i>Bos indicus</i> anéstricas mediante el método Kaplan-Meier según los diferentes grupos experimentales..... | 51 |
| Gráfica 5 Número de vacas <i>Bos indicus</i> anéstricas que ovularon en un tiempo ≤ 60 h y ≥ 60 h..... | 52 |
| Gráfica 6 Tiempo promedio de ovulación (h) después del retiro del CIDR según los tratamientos aplicados..... | 54 |

Severino Lendechy Víctor Hugo: **EFFECTO DE GnRH Y PROGESTERONA NATURAL EN LA DINÁMICA FOLICULAR Y TASA DE OVULACIÓN EN VACAS ANÉSTRICAS *Bos indicus*** (Bajo la dirección del Dr. Felipe Montiel Palacios).

RESUMEN

Se evaluó el efecto de 100 µg de GnRH en combinación con 1.9 g de progesterona natural contenida en un dispositivo intravaginal (CIDR) dejado *in situ* 7 días, en vacas *Bos indicus* multíparas, anéstricas, con 60 a 90 días posparto, y buena condición corporal. Se utilizaron 68 hembras que se distribuyeron en cinco grupos de tratamiento. El Grupo I (GnRH+CIDR+GnRH, n=15) recibió una inyección de 100 µg de GnRH al momento de colocar el CIDR y otra inyección de 100 µg de GnRH a las 24 h del retiro del CIDR; el Grupo II (GnRH+CIDR, n=14) sólo recibió una inyección de 100 µg de GnRH al momento de colocar el CIDR; el Grupo III (CIDR+GnRH, n=15) sólo recibió una inyección de 100 µg de GnRH a las 24 h de retirar el CIDR; el Grupo IV (CIDR, n=12) únicamente recibió el CIDR; y el Grupo V (Control, n=12) no recibió ningún tratamiento hormonal. Los resultados fueron evaluados mediante análisis univariado de medidas repetidas, curvas de sobrevivencia del método Kaplan-Meier, Chi-cuadrada y regresión logística. En la dinámica folicular se encontró diferencia en el número de folículos y su tamaño entre tratamientos ($P<0.05$). Existió efecto del tratamiento y la condición corporal sobre la dinámica folicular ($P<0.05$). En cuanto a la tasa de ovulación, se encontró diferencia entre tratamientos ($P<0.05$), así como efecto de tratamiento ($P<0.05$), pero no de la condición corporal, días posparto y número de partos ($P>0.05$). En el tiempo para la ovulación se observaron diferencias entre tratamientos ($P<0.05$). En conclusión, los diferentes tratamientos usados en el estudio sincronizaron y estimularon el desarrollo folicular para inducir la ovulación, y no existieron efectos de la condición corporal, días posparto y número de partos sobre la tasa de ovulación, pero sí efecto por el tratamiento.

Palabras clave: *Bos indicus*, GnRH, CIDR, Progesterona natural, Ovulación, Tasa de ovulación, Dinámica folicular.

Severino Lendechy Víctor Hugo: **EFFECT OF GnRH AND NATURAL PROGESTERONE ON THE FOLLICULAR DYNAMICS AND OVULATION RATE OF ANESTRUS *Bos indicus* COWS** (Supervised by Dr. Felipe Montiel Palacios)

ABSTRACT

The effect of 100 µg of GnRH in combination with 1.9 g of natural progesterone contained in an intravaginal device (CIDR) and kept 7 days *in situ*, was evaluated in multiparous anestrous *Bos indicus* cows, at 60 to 90 days postpartum and good body condition score. Sixty-eight cows were randomly distributed to one of the following treatment groups: Group I (GnRH+CIDR+GnRH, n=15) received one injection of 100 µg GnRH at the time of the CIDR insertion and a second injection of 100 µg GnRH 24 h after the CIDR removal; Group II (GnRH+CIDR, n=14) received only one injection of 100 µg GnRH at the time of the CIDR insertion; Group III (CIDR+GnRH, n=15) received only one injection of 100 µg GnRH 24 h after the CIDR removal; Group IV (CIDR, n=12) received only the CIDR; and Group V (Control, n=12) received no treatment. The results were analyzed through a repeated measures univariate analysis, survival curves of the Kaplan-Meier method, Chi-square and logistic regression. On the follicular dynamics, difference was found in the number and size of follicles among treatments ($P<0.05$). There was an effect of treatment and body condition score on the follicular dynamics ($P<0.05$). On the ovulation rate, difference was found among treatments ($P<0.05$), and there was also effect because of treatment ($P<0.05$), but there was no effect of body condition score, days postpartum and calving number ($P>0.05$). On the time for ovulation, difference was found among treatments ($P<0.05$). In conclusion, the different treatments used in this study synchronized and stimulated follicular growth for the induction of ovulation, and there were no effects of body condition score, days postpartum and calving number on the ovulation rate, but there was an effect of treatment.

Key words: *Bos indicus*, GnRH, CIDR, Natural progesterone, Ovulation, Ovulation rate, Follicular dynamics.

I. INTRODUCCIÓN

El prolongado anestro posparto es una de las principales causas que afectan la eficiencia reproductiva y productiva del ganado *Bos indicus* en regiones tropicales, teniendo una duración mayor a 150 días, lo que resulta en pérdidas económicas (Anta *et al.*, 1989; Vaccaro, 1990).

Para reducir el número de días abiertos, se usa la manipulación del ciclo estral, mediante la cual se induce el estro por métodos hormonales, con el fin de contrarrestar el efecto negativo que las deficientes condiciones de manejo y alimentación tienen sobre el desempeño reproductivo del ganado. En el bovino, para inducir a la ciclicidad se ha utilizado la aplicación de progesterona contenida en un dispositivo intravaginal (CIDR) por periodos de 5 a 10 días, lo que mantiene las concentraciones plasmáticas de progesterona, alcanzando niveles subluteales durante el tratamiento, permitiendo un incremento en la frecuencia de los pulsos de LH y previniendo la atresia del folículo dominante (Savio *et al.*, 1993; Stock y Fortune, 1993). Esto permite el crecimiento y maduración del folículo dominante que tiene la capacidad para ovular, inclusive en vacas anéstricas (Rhodes *et al.*, 2002). La progesterona liberada por el CIDR previene la formación de cuerpos lúteos de vida corta (Breuel *et al.*, 1993; Rivera *et al.*, 1998) y la ovulación que precede al tratamiento forma un cuerpo lúteo (CL) de actividad normal, capaz de desarrollar y mantener la gestación (Wiltbank *et al.*, 2002).

Entre los tratamientos que emplean CIDR, y que han sido diseñados para sincronizar y/o controlar el desarrollo folicular y la ovulación en vacas anéstricas, está su combinación con benzoato de estradiol, 17 β -estradiol, valerato de estradiol, cipionato de estradiol, o con hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y sus análogos (gonadorelina y buserelina). Éstos son aplicados en una inyección al momento de la inserción del CIDR para sincronizar el desarrollo de una nueva oleada folicular, y después del retiro del CIDR para provocar la ovulación del folículo dominante (Rivera *et al.*, 1998; Xu *et al.*, 2000; Driancourt, 2001; Bó, 2002; Borman *et al.*, 2003; Larson *et al.*, 2006).

Al respecto, Díaz *et al.* (2002) utilizaron el CIDR-B junto con una cápsula de 10 mg de benzoato de estradiol (BE) en hembras *Bos indicus*, y obtuvieron 92 y 90% de manifestación de estro en vacas y novillas, respectivamente, y 60 y 50% para los grupos que no recibieron BE. Sin embargo, aunque hubo un mayor porcentaje de presentación de celo por la aplicación de BE, esto no se tradujo en una mayor tasa de ovulación, pues sólo ovularon 60% de vacas tratadas sólo con CIDR, y 30% de aquéllas tratadas con CIDR más BE.

En otro estudio, Rivera *et al.* (1998), en vacas productoras de carne, aplicaron el CIDR por 8 días más 2 inyecciones de 5 mg de 17 β -estradiol, una a las 24 h de la inserción del dispositivo y la otra al momento de su retiro, realizaron destete temporal (48 h), y aplicaron 8 mg de GnRH 6 h antes de que éste terminara, con lo que obtuvieron tasas de ovulación de 89 y 66% en las hembras tratadas vs las testigo, y concluyeron que la aplicación de GnRH y el destete temporal, son importantes para inducir aceptables tasas de ovulación.

Por otro lado, la administración de GnRH induce la ovulación y/o luteinización del folículo dominante, resultando en sincronización del desarrollo de una nueva oleada folicular, reiniciando la ciclicidad posparto (Twagiramungu *et al.*, 1995; Kim *et al.*, 2005; Peters, 2005). Asimismo, induce la ovulación en hembras anéstricas, ya que estimula el desarrollo y función del tejido luteal, permitiendo el reinicio de los ciclos estrales (Troxel *et al.*, 1993; Thompson *et al.*, 1999). Esto indica que el uso de GnRH o sus análogos al momento de la inserción del CIDR-B y/o después del retiro del mismo, se traduce en mejor sincronización y presencia de ovulación; esto puede facilitar la aplicación y mejoramiento de técnicas reproductivas, tales como inseminación artificial (IA) y transferencia de embriones (TE), para hacerlas más eficientes en vacas mantenidas en condiciones de trópico (Rivera *et al.*, 1998; McGowan, 1999, Lamb *et al.*, 2001; Baruselli *et al.*, 2004; Baruselli *et al.*, 2006).

Por esta razón, se deben incorporar nuevas técnicas dirigidas hacia el control y sincronización de la dinámica folicular, ya que esto provee posibilidades para la aplicación de programas de TE (Baruselli *et al.*, 2006), e IA a tiempo fijo

(IATF). Aunque no se ha podido lograr una adecuada reducción en la variabilidad de los tiempos de presentación de la ovulación después de los tratamientos, particularmente en vacas posparto (Pursley, 1997; Risco, 1998; Martínez *et al.*, 1999; Johnson *et al.*, 2000; Colazo *et al.*, 2004), aquellos protocolos que contemplen la sincronización de la oleada folicular y la ovulación pueden ofrecer la posibilidad de mejorar los tratamientos de IATF, sin necesidad de detección de calores, y obteniendo buenos resultados (Stevenson *et al.*, 2000; Lamb *et al.*, 2001; Bó *et al.*, 2002b, 2003; Kaim *et al.*, 2003).

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue determinar si el empleo de GnRH en combinación con progesterona natural, influye en la dinámica folicular y aumenta la tasa de ovulación en vacas *Bos indicus* en anestro posparto, y si esto conduce a un mayor porcentaje de vacas que reinician su ciclicidad.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANESTRO POSPARTO

El anestro es una condición de inactividad ovárica, la cual se refleja en la completa ausencia de actividad sexual, sin manifestaciones de estro (Wright y Malmo, 1992), ni ovulación, y concentraciones sanguíneas de progesterona menores a 0.5 ng/ml (Arreguín *et al.*, 1997). En los bovinos, el anestro y la infertilidad durante el periodo posparto fueron reconocidos como problema por primera vez hace más de 60 años (Short *et al.*, 1990).

Wiltbank *et al.* (2002), mediante el uso del ultrasonido distinguieron los patrones de crecimiento folicular, y definieron tres categorías. La primera, donde se presenta la condición de no ovulación, es un estado anovulatorio con crecimiento folicular sin progresar más allá de la “emergencia” (~ 4 mm), con ausencia total de folículos > 8 mm de diámetro, y asociado con la virtual ausencia de liberación pulsátil de LH; esta categoría puede observarse en hembras que se encuentran en condiciones nutricionales adversas, especialmente ganado *Bos indicus* (Jolly *et al.*, 1995; Rhodes *et al.*, 1995). La segunda categoría es un estado anovulatorio con crecimiento folicular menor al tamaño de un folículo ovulatorio (~ 9 mm) (Wiltbank *et al.*, 2002), asociado con una relativa disminución en la liberación pulsátil de LH, y con un incremento en la sensibilidad al efecto de retroalimentación negativa del estradiol sobre la liberación de gonadotropinas (McDougall *et al.*, 1998). Se observa en vacas que presentan un periodo de anestro posparto prolongado, usualmente vacas de carne amamantando y vacas lecheras manejadas bajo condiciones de pastoreo (Murphy *et al.*, 1990; McDougall *et al.*, 1995). Es decir, esta condición puede ser causada por la desnutrición y/o el amamantamiento (Wiltbank *et al.*, 2002). La tercera categoría es un estado anovulatorio con crecimiento folicular más allá del tamaño de un folículo ovulatorio (10 a 20 mm), que implica varias condiciones fisiológicas, y puede asociarse con ausencia o exceso de manifestación de estro, lo que puede estar relacionado con un incremento en la liberación pulsátil de LH junto con una insensibilidad del

hipotálamo al efecto de retroalimentación positiva del estradiol sintetizado por el folículo en desarrollo, que cause el pico preovulatorio de LH; esta condición puede ser observada en vacas lecheras lactando, pero es poco común en ganado productor de carne (Wiltbank *et al.*, 2002).

El periodo de anestro posparto tiene una duración variable, y se ha observado tanto en vacas lactando (aquellas que producen leche pero no amamantan directamente a su becerro), como amamantando (aquellas que producen leche y amamantan directamente a su becerro) (Rhodes *et al.*, 2003). En vacas lecheras, existe un intervalo entre el parto y la primera ovulación de 19 a 22 días (Darwash *et al.*, 1997), que puede llegar hasta 43 días cuando el manejo es en un sistema de pastoreo (McDougall *et al.*, 1995). En vacas de carne amamantando este intervalo puede ser de 20 a 86 días (Murphy *et al.*, 1990). En vacas lecheras manejadas en pastoreo, entre 13 y 48% de las hembras se encontraron en anestro una semana antes del inicio de la temporada de empadre (Rhodes *et al.*, 2001). En vacas de carne amamantando, el 23% no ha ovulado al inicio del empadre, y esto aumenta 6% con cada 10 días que pasan de la fecha del último parto (Lamb *et al.*, 2001).

Las concentraciones de gonadotropinas son muy bajas en el último tercio de la gestación, debido al efecto de retroalimentación negativa por parte de la progesterona y estrógenos. Después del parto, las concentraciones de FSH se incrementan dentro de los 5 a 10 días, tanto en vacas lactando como amamantando. Los episodios de liberación pulsátil de LH son detectados por primera vez alrededor de los 10 a 20 días posparto en vacas lactando, pero existe un periodo más prolongado en vacas amamantando; este retraso en la frecuencia de la liberación de pulsos de LH está relacionado con el intervalo a la primera ovulación posparto (Beam y Butler, 1997; Crowe *et al.*, 1998).

El crecimiento y desarrollo folicular puede detectarse mediante ultrasonografía. En el posparto, inicia 1 o 2 días después del primer incremento significativo en la concentración plasmática de FSH (Beam y Butler, 1997; Crowe *et al.*, 1998). Un folículo grande o dominante comienza su crecimiento alrededor

del día 10 a 14 posparto, tanto en vacas lactando como amamantando (Murphy *et al.*, 1990; Savio *et al.*, 1990; McDougall *et al.*, 1995). Este primer folículo dominante puede terminar su maduración y ovular, o volverse atrésico y ser reemplazado por otro u otros folículos dominantes, los cuales a su vez podrían continuar con su crecimiento y volverse quísticos. La ovulación de un folículo dominante ocurre cuando el estradiol sintetizado por dicho folículo es suficiente para estimular la liberación de FSH y el pico preovulatorio de LH. La cantidad de estradiol que se produce en cada etapa del desarrollo del folículo dominante depende de la adecuada cantidad y soporte de gonadotropinas en términos de la frecuencia pulsátil de LH, y las concentraciones plasmáticas de estradiol están asociadas con la elevada concentración plasmática del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I) (Stagg *et al.*, 1998; Beam y Butler, 1999). Tanto el IGF-I como la insulina, son potentes estimulantes de la esteroidogénesis y del crecimiento de células de la granulosa y teca *in vitro*, actuando de forma sinérgica con la FSH o LH (Lucy *et al.*, 1999; Webb *et al.*, 1999).

La primera ovulación posparto está frecuentemente asociada con la ausencia de manifestaciones de estro, y el CL que se forma generalmente es de corta duración (Murphy *et al.*, 1990; McDougall *et al.*, 1995). Esta fase lútea de corta duración se debe a la interacción que existe entre el útero, el CL y posiblemente el folículo ovulatorio. La prematura liberación de prostaglandinas (PGF₂α) de origen uterino, es la causante de esta fase lútea de corta duración, y por ende del incorrecto desarrollo del primer CL (Zollers *et al.*, 1989; Cooper *et al.*, 1991), haciendo que exista una baja concentración de progesterona en la primera ovulación posparto. De igual forma, en este período no hay una cantidad adecuada de receptores para dicha hormona en el útero, los cuales son necesarios para que no se desencadene la liberación de PGF₂α, sino que existe un mayor número de receptores endometriales para oxitocina, permitiendo que se dé el estímulo temprano de retroalimentación positiva entre la oxitocina y la PGF₂α (Zollers *et al.*, 1993). Dentro de este mecanismo de lúteolisis temprana se encuentra involucrado el estradiol generado por el o los folículos preovulatorios, el

cual incrementa el número de receptores endometriales para oxitocina, permitiendo que ésta estimule la prematura liberación de PGF2 α de origen uterino (Mann y Lamming, 2000).

Por lo tanto, el anestro posparto es un periodo de transición durante el cual el eje hipotálamo-hipófisis-ovario se recupera de la gestación previa. Las primeras 2 a 3 semanas son necesarias para el inicio de la involución uterina, para que la hipófisis anterior renueve sus concentraciones de LH, y para que la actividad ovárica se reanude con el desarrollo de nuevas oleadas foliculares; así, dentro de las primeras 3 semanas posparto, la vaca se encuentra nuevamente preparada para reiniciar su ciclicidad (Yavas y Walton, 2000b).

Sin embargo, en el ganado de las regiones tropicales esto con frecuencia no sucede, debido a que son muchos los factores que afectan la duración del anestro posparto, siendo los más importantes la nutrición y el amamantamiento (Short y Adams, 1988; Williams, 1990; Randel, 1990; Stagg *et al.*, 1998; Yavas y Walton., 2000b; Hashizume *et al.*, 2002; Bó *et al.*, 2003). Otros factores que influyen de manera secundaria son la época del año, hormonas exógenas, raza, edad al parto y presencia del toro (Short *et al.*, 1990; Wright y Malmo, 1992; Browning *et al.*, 1996; Yavas y Walton, 2000b; Abeygunawardena y Dematawewa, 2004).

2.2. FACTORES QUE AFECTAN EL ANESTRO POSPARTO

2.2.1. NUTRICIÓN

La condición corporal (CC), aunque es una apreciación subjetiva, es un indicador funcional del estatus energético y del futuro rendimiento y potencial reproductivo de la hembra después del parto. Un inadecuado balance energético o bajos niveles proteicos en la dieta durante el parto y/o en el posparto, provocarán bajas tasas de concepción y gestación a primer servicio posparto, así como un periodo más extenso de anestro posparto e inactividad ovárica (Randel, 1990; D'occhio *et al.*, 1990; DeRouen *et al.*, 1994; Viscarra *et al.*, 1998).

En ganado productor de carne, la nutrición en el preparto y posparto es un factor determinante de la duración del anestro posparto (Richards *et al.*, 1986; Selk *et al.*, 1988), existiendo una correlación negativa entre la CC al parto y la duración del anestro posparto (Wright *et al.*, 1987, 1992). La condición corporal al parto es uno de los factores más importantes que afectan la siguiente época de empadre en vacas productoras de carne. Una CC de 5 (escala del 1-9) al momento del parto es importante para asegurar una aceptable reproducción en el posparto en vacas multíparas. Las vacas con CC >6 o <5, dependiendo del manejo que reciban, pueden ganar o perder peso durante el último trimestre de gestación, para obtener una CC de 5 al parto. En este caso, las subsecuentes gestaciones deben de ser manejadas de igual forma para que las vacas se mantengan en su CC adecuada. El desempeño reproductivo de las vacas en buena CC al momento del parto no es afectado por los cambios en las reservas energéticas corporales durante el último trimestre de la gestación (Morrison *et al.*, 1999).

La desnutrición severa del ganado productor de carne en el último trimestre de gestación y en el posparto puede resultar en la ausencia de folículos ≥ 5 mm ó > 8 mm de diámetro, los cuales pueden producir adecuadas cantidades de estradiol (Perry *et al.*, 1991; Jolly, 1992). Perry *et al.* (1991), encontraron que en vacas productoras de carne con una dieta baja en energía antes y después del parto, el crecimiento de folículos ≥ 8 mm era virtualmente abolido. Un bajo consumo de energía después del parto puede resultar en la aparición de folículos pequeños (5.0–7.9 mm), los cuales persisten en los ovarios por periodos prolongados, quizá esto es reflejo de la ausencia de un folículo dominante funcional (Perry *et al.*, 1991). En este sentido, vacas *Bos indicus* con buena CC tuvieron folículos estrogénicamente activos > 8 mm, y la mitad de ellas no tuvieron folículos > 5 mm, lo cual se presentó tanto en ovarios de 6 como de 10 semanas posparto. Sin embargo, en folículos presentes de tamaño pequeño (2–4 mm) y mediano (5–7 mm), la síntesis de estradiol de forma individual no fue diferente entre las vacas que se alimentaron con una dieta restringida (Jolly, 1992). Estos

hallazgos son consistentes con otros que sugieren que la desnutrición crónica tiene poco efecto sobre la función esteroidogénica de los folículos pequeños o medianos en ganado productor de carne (Prado *et al.*, 1990; Rutter y Manns, 1991; Ryan *et al.*, 1994).

Los efectos de la nutrición durante el anestro posparto son aparentemente inconsistentes en ganado productor de carne, ya que mientras en algunos estudios se consideran sin efectos (Wettemann *et al.*, 1986; Wright *et al.*, 1992), en otros se consideran con efectos significativos (Wright *et al.*, 1987). Estas inconsistencias pueden reflejar la interacción entre la nutrición pre y posparto, el balance energético negativo, la CC, la producción láctea y el amamantamiento, así como otros factores medioambientales que influyen en la duración del anestro posparto (Stagg *et al.*, 1998; Wettemann y Bossis, 2000; Lents *et al.*, 2000; Wettemann *et al.*, 2003).

En regiones tropicales, las vacas que paren con buena CC y la mantienen después del parto, tienen mejores parámetros reproductivos, en comparación con aquéllas que paren con baja CC (Galina y Arthur, 1989a). Esto es debido a que tienen una buena función hipofisiaria y, en consecuencia, un buen potencial reproductivo (Rutter y Randel, 1984). Aunque la CC al momento del parto tiene una particular importancia en el restablecimiento de la actividad ovárica (Haresign, 1984; Holness, 1984), se debe considerar que existe una compleja relación entre el estatus nutricional y la función reproductiva (Short y Adams, 1988; Randel, 1990). Las reservas de grasa corporal regulan la secreción de hormonas del hipotálamo y la hipófisis que controlan las funciones ováricas (Roberson *et al.*, 1992). Un importante mecanismo mediante el cual el déficit de energía afecta la actividad reproductiva, es mediante la supresión en la liberación de GnRH, y como consecuencia, en la frecuencia de pulsos de LH necesaria para obtener el crecimiento folicular (Schillo, 1992).

El posible mecanismo mediante el cual la desnutrición puede inhibir el reinicio de la actividad ovárica en vacas posparto, es la supresión de la secreción de GnRH del hipotálamo. Sin embargo, poco se sabe sobre las vías específicas a

través de las cuales se transmiten las señales neuroendocrinas que afectan la secreción de GnRH (Jolly *et al.*, 1995). Algunos mecanismos involucran hormonas metabólicas relacionadas con la regulación del metabolismo intermediario, particularmente la insulina. La insulina puede regular la utilización de glucosa para las células bovinas, y es dependiente de ésta para ser transportada (Livingstone *et al.*, 1995; Wettemann *et al.*, 2003). La insulina puede estimular la liberación de GnRH de fragmentos de tejido hipotalámico *in vitro* cuando la glucosa está disponible (Arias *et al.*, 1992), y puede estimular la producción de esteroides por parte de las células ováricas (Spicer y Echterkamp, 1995). El tratamiento con insulina en vacas puede incrementar el desarrollo folicular (Harrison y Randel, 1986) y la producción de estradiol en los folículos dominantes (Simpson *et al.*, 1994).

En otros estudios, se ha sugerido que los efectos de la desnutrición sobre la secreción de GnRH del hipotálamo pueden estar parcialmente controlados por el neuropéptido Y (NPY), el cual al parecer participa en la regulación de la ingesta de alimento y en el balance energético en los ruminantes (Miner, 1992; McShane *et al.*, 1993). También se ha propuesto al NPY como un mediador primario de la acción de la leptina en el hipotálamo, regulando la LH y la somatotropina, lo cual es dependiente de la especie y del estado fisiológico. En condiciones de estrés nutricional, la expresión de RNAm para leptina es suprimida y el NPY se eleva a nivel central. Todo esto resulta en la disminución de la secreción de LH, por la interacción entre los receptores de los diferentes núcleos neuronales hipotalámicos (Baskin *et al.*, 1999; Leibowitz y Wortley, 2004). La leptina regula la disponibilidad de glucosa en el hipotálamo, a través de su acción en las moléculas transportadoras, o por mecanismos periféricos como la reducción en la liberación de insulina e incremento en la sensibilidad insulínica (Hillebrand *et al.*, 2002; Sahu, 2004)

Los efectos locales de la leptina se han demostrado en las gónadas, donde la hiperleptinemia suprime la esteroidogénesis y afecta la maduración de gametos (Smith *et al.*, 2002). Se ha propuesto que las células de la granulosa y de la teca,

en diferentes especies, pueden sintetizar y secretar leptina, de acuerdo con la fase de desarrollo folicular. La concentración de leptina en el fluido folicular se relaciona directamente con los niveles séricos. Los mecanismos por los cuales la concentración de la hormona aumenta durante el crecimiento folicular permanecen inciertos (Brannian y Hansen, 2002; Smith *et al.*, 2002). Sin embargo, aún se desconoce si los efectos de la nutrición sobre el crecimiento y la función folicular en vacas se deben sólo a los simples cambios en la secreción de gonadotropinas, o si están involucrados efectos locales dentro del ovario, posiblemente mediados por hormonas metabólicas o factores de crecimiento (Jolly *et al.*, 1995; Spicer, 2001; Williams *et al.*, 2002; Wettemann *et al.*, 2003).

Por otro lado, la desnutrición crónica en el posparto de vacas productoras de carne amamantando puede inducir un estado similar a aquellas vacas hipofisectomizadas, en donde existe una supresión total del desarrollo folicular de aquellos folículos que son dependientes de gonadotropinas (Perry *et al.*, 1991; Jolly, 1992).

El crecimiento de los folículos bovinos más allá de 4-5 mm, y su habilidad para producir considerables cantidades de estradiol, depende del correcto soporte de FSH y LH (Driancourt, 1991; Fortune, 1994). La FSH controla el crecimiento de los folículos mayores a 5 mm, mientras que la LH está asociada con el mantenimiento del folículo dominante y con su capacidad para producir adecuadas cantidades de estradiol, el cual es necesario para la inducción del estro, el pico preovulatorio de LH y la ovulación (Fortune, 1994).

Durante el anestro nutricional inducido, existe una inadecuada cantidad de LH y una secreción normal de FSH, lo cual es asociado con una producción inadecuada de estradiol por parte del folículo dominante (Bossis *et al.*, 1999). Para la maduración de los folículos es necesario que se secreten pulsos de LH cada hora (Jolly *et al.*, 1995), debido a que la LH es responsable de las cantidades de estradiol que el folículo dominante puede producir; este estradiol proviene de la aromatización que realizan las células de la granulosa del sustrato del cual dependen, principalmente androstenediona, que proviene de la teca interna cuyas

células son controladas por LH (McNatty *et al.*, 1984). Para recuperar la secreción pulsátil de LH se requiere del restablecimiento del efecto de retroalimentación positiva por parte del estradiol sobre el hipotálamo y la hipófisis anterior, mismo que es suprimido durante el posparto temprano, pero que se recupera en las 2-3 semanas posparto cuando la nutrición no está limitada (Alam y Dobson, 1987; Nolan *et al.*, 1988). El reinicio del crecimiento de folículos grandes después del parto es resultado de un incremento en la secreción de FSH entre 3-4 días después del parto en vacas que fueron alimentadas adecuadamente (Lamming *et al.*, 1981), pero la habilidad de los folículos para crecer, convertirse en dominantes y la duración de su dominancia, probablemente dependa del periodo durante el cual existe una secreción pulsátil de LH, lo cual a su vez es reflejo de la cantidad en la secreción tónica de GnRH por parte del hipotálamo (Jolly *et al.*, 1995). Así, las vacas con buena CC pueden iniciar de forma más rápida la secreción de LH y la presentación de estros posparto (Bishop *et al.*, 1994).

2.2.2. AMAMANTAMIENTO

El amamantamiento es uno de los principales factores que influyen en la duración del anestro posparto en ganado productor de carne (Stagg *et al.*, 1998). Si el amamantamiento se practica durante la lactación, esto bloquea la ovulación dando como consecuencia el prolongado periodo de anestro posparto, lo que contribuye a una disminución en la eficiencia reproductiva (Wettemann, 1994).

Las oleadas foliculares se reinician poco tiempo después del parto, pero en ganado de carne que amamanta, sólo 10% ovula en sus primeras oleadas foliculares. Esto es debido a que los folículos dominantes de estas oleadas no alcanzan el tamaño ovulatorio, porque no finalizan su desarrollo hasta su completa maduración, como consecuencia de la ausencia de pulsos adecuados de LH, que son un prerequisite para la maduración final del folículo antes de ovular (Short *et al.*, 1990; Butler, 2000; Yavas y Walton, 2000b).

La ausencia de pulsos de LH en el posparto temprano se debe a que no existen reservas de esta hormona en la adenohipófisis (Nett *et al.*, 1987, 1988), ya

que durante la última gestación hubo un efecto inhibitorio del estradiol de origen placentario sobre la síntesis de las subunidades α y β , por lo tanto, esta condición es independiente del amamantamiento en esta etapa (Nett, 1987). Por ello, el destete inmediatamente después del parto no inicia los pulsos de LH ni la ovulación, esto se produce hasta después de que las concentraciones de LH en la hipófisis anterior se han restablecido a partir del día 20 en ganado de carne (Rund *et al.*, 1989; Rutter y Manns, 1991; Hoffman *et al.*, 1996). Si después de que se han restablecido las concentraciones hipofisiarias de LH en el posparto continúa la ausencia de pulsos de LH, esto sí es debido al efecto del amamantamiento (Nett, 1987). Así que, una vez que las concentraciones de LH se han elevado en la adenohipófisis y se realiza algún tipo de destete, ya sea total, temporal (48 a 96 h) o parcial (amamantamiento controlado una o dos veces al día), se verá incrementada la frecuencia de pulsos de LH (Myers *et al.*, 1989; Griffith y Williams, 1996; Stagg *et al.*, 1998), así como la cantidad de receptores a nivel folicular para dicha hormona (Walters *et al.*, 1982a,b) y para la FSH (Walters *et al.*, 1982a), con lo cual se puede presentar la ovulación en unos cuantos días (Houghton *et al.*, 1990; Zollers *et al.*, 1991; Day *et al.*, 1993; Zollers *et al.*, 1993; Lamb *et al.*, 1997; Bell *et al.*, 1998; Lamb *et al.*, 1999).

El regreso de los becerros con las vacas disminuye la frecuencia de pulsos (Shively y Williams, 1989) y la concentración circulante de LH (Dunlap *et al.*, 1981). Aplicar el amamantamiento restringido a una vez al día por 30-90 min (destete parcial) entre los días 21 a 30 posparto acorta el anestro posparto (Browning *et al.*, 1994; Bell *et al.*, 1998; Stagg *et al.*, 1998). En el caso de la FSH, los patrones de liberación no se ven afectados por el destete parcial (amamantamiento restringido una vez al día) en el día 30 posparto (Stagg *et al.*, 1998). Por otro lado, el amamantamiento controlado dos veces al día parece no reducir la duración del anestro posparto (Lamb *et al.*, 1999). El amamantar los becerros *ad libitum* inmediatamente después del parto prolonga el anestro posparto (Echternkamp y Gregory, 1999) y reduce la frecuencia de pulsos de LH (Convey *et al.*, 1982). Estas observaciones indican que el amamantamiento

suprime la liberación de LH aún después de que se han restablecido las concentraciones de esta hormona en la hipófisis anterior (Yavas y Walton, 2000b).

El amamantamiento suprime la liberación de LH, y el destete incrementa la liberación de GnRH (Gazal *et al.*, 1998). Se ha comprobado que el contenido de GnRH en el hipotálamo en vacas de posparto amamantando (Nett *et al.*, 1988) es mayor que en vacas ciclando (Nett *et al.*, 1987), y estas concentraciones no cambian hasta el día 30 a 45 posparto (Nett *et al.*, 1988). Las concentraciones de GnRH en el hipotálamo y de LH en la adenohipófisis son similares entre vacas amamantando y sin amamantar (Walters *et al.*, 1982c), y mediante la inyección de un análogo de GnRH se puede inducir la liberación de LH (Walters *et al.*, 1982c; Williams *et al.*, 1982). Esto, sugiere que el amamantamiento inhibe la liberación de pulsos de LH aún después de su restauración en la adenohipófisis, mediante la supresión de descargas de GnRH del hipotálamo (Williams, 1990).

En estudios realizados con vacas posparto ovariectomizadas y con implantes de estradiol, se ha demostrado que el efecto de supresión por parte del amamantamiento sobre la liberación pulsátil de LH está modulado por los estrógenos de origen ovárico; es decir, el amamantamiento incrementa la sensibilidad de retroalimentación negativa de los estrógenos de origen ovárico sobre el pulso generador de GnRH, resultando en la supresión de la liberación de LH (Zalesky *et al.*, 1990; Williams y Griffith, 1995; Estienne *et al.*, 2003). Conforme el periodo posparto aumenta, el pulso generador de GnRH se vuelve menos sensible al estímulo del amamantamiento (Garcia-Winder *et al.*, 1984), y escapa al efecto de retroalimentación negativa por parte de los estrógenos de origen ovárico, lo que resulta en un incremento en la pulsatilidad de LH, las gonadotropinas preovulatorias se liberan y se presenta la ovulación (Williams y Griffith, 1995; Yavas y Walton, 2000b).

Por otro lado, existe también una interacción vaca-becerro en el amamantamiento que influye en el anestro (Williams y Griffith, 1992, 1995). En estudios donde se realizó mastectomía a las vacas (Short *et al.*, 1972) o destete

(Williams *et al.*, 1987), sugieren que el amamantamiento suprime la liberación de pulsos de LH mediante la estimulación táctil (señales somatosensoras) de la ubre o del pezón por parte del becerro a la hora de mamar. Griffith y Williams (1996), sugieren que el papel que tienen la visión y el olfato de la vaca al momento de amamantar al becerro suprime la liberación de LH. El aparato vomeronasal es importante en la regulación del anestro posparto en las vacas de carne, debido no sólo al estímulo visual que ejerce el becerro en la vaca, sino también al acicalamiento, olfateo y número de interacciones por día; todos estos estímulos actúan como fuertes mediadores neuroendócrinos para la liberación de opioides endógenos en el tejido neural en la madre, bloqueando el pulso generador de GnRH, por lo que la vaca permanece en estado anovulatorio (Montaño y Ruiz-Cortés, 2005). En otros estudios donde se desnervó la glándula mamaria (Williams *et al.*, 1993), se hizo estímulo manual de los pezones (Williams *et al.*, 1984), amamantamiento restringido o aislamiento de los becerros (Stagg *et al.*, 1998), los cuales concluyeron que la presencia física del becerro influyó en el efecto del amamantamiento sobre la ovulación en el posparto. De hecho, el vínculo vaca-becerro se establece inmediatamente después del parto a través de las señales visuales, olfativas y sensoriales, y se mantiene durante todo el periodo del amamantamiento (Fabre-Nys *et al.*, 1993).

Otros estudios han sugerido que el efecto supresivo del amamantamiento sobre la ovulación posparto es inducido por el estímulo táctil en la área inguinal de la vaca por su propio becerro a la hora de mamar (Viker *et al.*, 1993; Stevenson *et al.*, 1994), o inclusive se puede dar con un becerro que no sea su cría una vez que se establece el vínculo vaca-becerro. Sin embargo, en las vacas que amamantaron a becerros ajenos no hubo cambio en el tiempo a la primera ovulación posparto, en comparación con las vacas que sí amamantaron a sus propios becerros (Lamb *et al.*, 1997). Sin embargo, Wettemann *et al.* (1978) reportaron que existe un intervalo más corto de tiempo a la primera ovulación posparto entre vacas que amamantaron a becerros ajenos, en comparación con aquéllas que amamantaron a sus propios becerros. Durante el amamantamiento

se libera oxitocina debido al contacto inguinal (Stevenson *et al.*, 1994), y las vacas que amamantan a sus propios becerros liberan cantidades más elevadas, en comparación con aquéllas que amamantan a crías ajenas (Silveira *et al.*, 1993).

Por otro lado, se ha considerado que la inhibición de la liberación de LH provocado por el amamantamiento tal vez sea influenciada por la secreción de los péptidos opioides de origen hipotálamico (β -endorfinas) en respuesta al estímulo del amamantamiento (Peters y Lamming, 1990, Williams, 1990; Boland *et al.*, 1990). Los péptidos opioides son producidos en el cerebro y la adenohipófisis, e incluyen a las endorfinas, encefalinas y dinorfinas; las β -endorfinas son los péptidos opioides más potentes (Hadley, 1984). Su función principal es analgésica, en aquellos casos donde se experimenta un estímulo de dolor. Sin embargo, los péptidos opioides han sido propuestos como inhibidores de la liberación de GnRH, actuando directamente sobre las neuronas productoras de GnRH (Kerdelhue *et al.*, 1988; MacDonald *et al.*, 1990; Leshin *et al.*, 1991), así como inhibidores de la liberación de LH actuando sobre la hipófisis anterior (Chao *et al.*, 1986). Sin embargo, la inhibición que causan los péptidos opioides sobre la liberación de LH disminuye conforme el intervalo posparto aumenta, y la mayoría de las vacas reinician sus ciclos ováricos normales (Williams y Griffith, 1995).

La liberación de prolactina junto con el amamantamiento (Akers *et al.*, 1981a,b), debido al contacto inguinal (Stevenson *et al.*, 1994), ha sido otro factor considerado en la inhibición de la ovulación. Sin embargo, la liberación de prolactina no está claramente asociada con el amamantamiento en vacas de carne (Nett *et al.*, 1988; Wheeler *et al.*, 1982; Hoffman *et al.*, 1996), ni su concentración circulante está claramente diferenciada entre vacas lactando y amamantando (Akers y Lefcourt, 1982). En el caso de tratamientos con agonistas de la dopamina, los cuales bloquean la liberación de prolactina, no hubo cambios en la duración del anestro posparto ni tampoco en las concentraciones circulantes de gonadotropinas (Williams y Ray, 1980). Además, no se encontraron alteraciones en la síntesis de esteroides de folículos ováricos *in vitro* (Weiss *et al.*, 1981). Estos estudios indican que la prolactina no modula de forma asociada con el

amamantamiento la condición anovulatoria del posparto en vacas de carne (Yavas y Walton, 2000b).

La IGF-I es otra hormona metabólica relacionada con el amamantamiento, que tiene un efecto inhibitorio sobre la liberación pulsátil de GnRH durante el posparto temprano; este efecto también se ve en vacas delgadas. Si las vacas tienen buenas reservas energéticas corporales y una adecuada nutrición, este efecto inhibitorio sobre la secreción de GnRH se ve disminuído hacia el día 30 posparto (Wettemann *et al.*, 2003). Las concentraciones de IGF-I circulantes y en el líquido folicular han sido correlacionadas positivamente con la CC al parto (Bishop *et al.*, 1994, Ryan *et al.*, 1994) y en el posparto (Lalman *et al.*, 2000). Las concentraciones circulantes de IGF-I en los primeros 30 días posparto han sido inversamente relacionadas con la duración del anestro posparto en vacas de carne (Simpson *et al.*, 1992), y se incrementan durante el periodo posparto hasta la primera ovulación (Roberts *et al.*, 1997; Stagg *et al.*, 1998). Sin embargo, los tratamientos con somatotropina, que incrementan la concentración endógena de IGF-I, no tuvieron efectos sobre la ovulación o número de folículos (Andrade *et al.*, 1996). El desarrollo folicular inducido con GnRH en vacas posparto no tuvo relación con los cambios en las concentraciones de IGF-I intrafolicular, aunque las concentraciones de IGF-I en la síntesis de estradiol folicular fueron positivamente correlacionadas con el diámetro folicular después del tratamiento con GnRH (Spicer *et al.*, 1988). En otro estudio donde se separó a vacas de carne de sus becerros después del día 18 posparto, se encontró un incremento en las concentraciones circulantes de IGF-I (Lamb *et al.*, 1999), pero no se halló alguna relación entre las concentraciones circulantes de IGF-I y la duración del anestro posparto en vacas de carne (Rutter *et al.*, 1989), aunque las concentraciones circulantes de IGF-I han sido relacionadas con la frecuencia de la liberación pulsátil de LH (Zurek *et al.*, 1995).

Estos resultados pueden ser utilizados como indicadores del inicio de la actividad cíclica en el posparto (Yavas y Walton, 2000b; Wettemann *et al.*, 2003), pero los mecanismos fisiológicos mediante los cuales estos factores controlan el

anestro posparto ya sea de forma individual o combinada, no ha sido bien establecidos (Sanz *et al.*, 2003).

2.2.3. ÉPOCA DEL AÑO

En los países con clima cálido, el anestro posparto es frecuente durante la estación de pocas lluvias, tanto para razas *Bos indicus* como *Bos taurus*. Los efectos del clima sobre el comportamiento reproductivo afectan la eficiencia productiva del hato y son muy importantes en zonas tropicales y subtropicales, donde es mayor el impacto del ambiente. Este efecto estacional puede estar condicionado en algunas regiones, más que por los factores climáticos, por limitaciones en la disponibilidad de alimento (Kinder *et al.*, 1997).

En las regiones tropicales, existe una marcada variación en las épocas del año tanto en la calidad como en la cantidad del forraje disponible, resultando en prolongados periodos en los cuales los animales tienen una alimentación deficiente (McIvor, 1981). Esto es particularmente crítico durante el periodo preparto, donde es necesario un forraje de mayor calidad nutritiva por lo menos en el último tercio de la gestación y entre las 8 a 12 semanas después del parto. En este periodo de 6 meses, es difícil proveer al ganado con la proteína y energía necesarias para esta crítica etapa de su vida reproductiva, y más en las regiones donde la alimentación de los animales depende únicamente de la disponibilidad de forrajes, los cuales a su vez están supeditados a la época de lluvias (Galina y Arthur, 1989b). Bajo estas condiciones, el prolongado periodo de anestro posparto es común, y es uno de los principales factores que afectan al ganado Cebú (Entwistle, 1983).

Los efectos de la época del año (secas o lluvias) al momento del parto en los trópicos han sido estudiados por varios, así, Oliveira (1974), al trabajar con ganado Nelore, observó que la época de partos que se dió en la temporada de secas tuvo un rango interparto de 19.9 meses, el cual fue mayor comparado con los partos que se dieron en la época de lluvias, los cuales tuvieron un periodo interparto de 14.5 meses.

Así mismo, Abeygunawardena *et al.* (1994), observaron en ganado Cebú una gran incidencia de partos en cierta época del año, la que coincidía con el comienzo de la temporada de lluvias, lo cual es resultado del efecto del clima sobre la temporada de partos y así también sobre la actividad ovárica en el posparto. Esto sugiere que esta diferencia estacional hace que las vacas que paren al final de la época de secas puedan aprovechar y tomar ventajas del mejoramiento que se da en las condiciones nutricionales durante la siguiente época de lluvias, y puedan satisfacer sus requerimientos de mantenimiento, crecimiento y lactación (Hansen, 1985).

Por otro lado, los cambios de temperatura en el medio ambiente afectan el medio interno del animal, lo que se refleja en cambios de fertilidad. En este sentido, Gwazdauskas *et al.* (1973), mostraron que la temperatura uterina el día de la inseminación y un día después de ésta, se asoció negativamente con la tasas de concepción. Un aumento de 0.5 °C por encima de la temperatura el día de la inseminación (38.6°C) y un día después (38.3°C) disminuyen la tasa de concepción 12.8 y 6.9%, respectivamente.

Igualmente, el bovino se ve afectado por las variaciones ambientales a nivel hormonal. Los niveles plasmáticos de progesterona aumentan con altas temperaturas ambientales, presentandose un ligero aumento en la concentración de cortisol durante la fase lútea. Por lo tanto, la secreción de LH disminuye, y hay reducción de los niveles normales de estrógenos en el plasma antes del estro, reduciendo la tasa de concepción (Schroeder y Suárez, 1991).

2.2.4. EFECTO DE HORMONAS EXÓGENAS

Las hormonas exógenas en dispositivos liberadores de progesterona y progestágenos, la GnRH, los estrógenos, la LH y la FSH, han sido usados para reiniciar la actividad ovárica en el posparto, así como para mejorar los rangos de fertilidad en el posparto temprano del ganado Cebú (Baruselli *et al.*, 2006 ; Bó *et al.*, 2006).

Los tratamientos con progestágenos por periodos cortos (7 días) resultan en un aumento en la tasa de gestación, mientras periodos prolongados (14-20 días) producen una excelente sincronización pero baja fertilidad (Odde, 1990; Mihm *et al.*, 1994).

Varios factores se han relacionado con esta baja fertilidad, entre los que se encuentran defectos en el transporte de espermatozoides y una mala calidad del ovocito (Mihm *et al.*, 1994; Smith y Stevenson, 1995). Además, los progestágenos no llegan a “imitar” la acción de los niveles luteales de progesterona sobre la secreción pulsátil de LH, que se encuentran aumentados y hacen que el folículo dominante (folículo persistente) siga creciendo, sin permitir el crecimiento de una nueva oleada folicular (Sanchez *et al.*, 1995; Smith y Stevenson, 1995). A su vez, la alta frecuencia de pulsos de LH activa al ovocito para que continúe con la meiosis, de manera que cuando se quita la fuente de progesterona, el folículo ovulatorio contiene un ovocito envejecido y resulta en una baja fertilidad (Revah y Buttler, 1996; Smith y Stevenson, 1995).

Para evitar el problema de los folículos persistentes es necesario sincronizar el desarrollo folicular, de manera que todas las hembras tengan un folículo en crecimiento con capacidad de ovular un ovocito viable después de un tratamiento con progestágenos (Lucy *et al.*, 2004). Esto se puede lograr mediante la aplicación de dos inyecciones de GnRH; la primera causa la sincronización en el reclutamiento de una nueva oleada folicular, y la segunda sincroniza el momento de la ovulación (Driancourt, 2001). Esto mismo se puede obtener con la aplicación de valerato de estradiol, una inyección al momento de poner el dispositivo liberador de progesterona y otra dos días después del retiro del mismo (Colazo *et al.*, 1999; Macmillan y Burke, 1996). El tratamiento con una sola inyección de FSH en el día 21 posparto junto con un progestágeno incrementa el número de folículos grandes (>10 mm), pero la mayoría sufre atresia prematura (Yavas *et al.*, 1999).

Sin embargo, los resultados de los diferentes tratamientos también se ven afectados por el estado de anestro de la hembra, el cual puede ser profundo o superficial. Las hembras en anestro profundo no responden a los tratamientos,

pues les toma un mayor tiempo reiniciar su actividad ovárica, en comparación con hembras en anestro superficial (Wright y Malmo, 1992).

2.2.5. RAZA

En condiciones tropicales, las vacas Cebú muestran un patrón de comportamiento reproductivo caracterizado por anestro prolongado, debido a un retorno tardío a la ciclicidad, lo cual trae como consecuencia un incremento en el número de días abiertos y disminución de la eficiencia productiva, representada en número de crías por año (Henaó *et al.*, 2000). El ciclo estral se reanuda entre 46 a 168 días posparto (Caprio *et al.*, 2001) y la falla en la ovulación es lo que aumenta el período de anestro posparto. La actividad ovárica de estas vacas presenta varios tipos de desarrollo folicular con ciclos cortos (10 ± 2 días) o largos (50 ± 4 días) (Sahu, 2004).

La especie *Bos indicus* manifiesta un anestro posparto más prolongado que la *Bos taurus*, alcanzando hasta 150-210 días en condiciones tropicales (Mukasa-Mugerwa, 1989; Castillo *et al.*, 1997). Sin embargo, Henaó *et al.* (2000) reportaron intervalos parto-primer estro de sólo 20 a 30 días en vacas Gyr y cruzadas, lo cual sugiere que las razas cebuínas tienen capacidad para iniciar tempranamente la actividad reproductiva, como lo hacen las vacas de razas europeas (Henaó *et al.*, 2000).

2.2.6. EDAD AL PARTO

Debido a que las vacas primíparas continúan con su crecimiento, las frecuencias de pulsos de LH en el posparto disminuyen (Grimard *et al.*, 1995; Randel *et al.*, 1996). Esto hace que el anestro posparto se prolongue de 1 a 4 semanas más en comparación con vacas múltiparas (Walton *et al.*, 1992; Grimard *et al.*, 1995; Randel *et al.*, 1996; Fajersson *et al.*, 1999; Guedon *et al.*, 1999).

De acuerdo con Dimmick *et al.* (1991), existen diferencias entre vacas múltiparas y primíparas. En éstas últimas, la primera ovulación posparto se presentó a los 112 días, con rangos de 61 a 142 días, mientras que en vacas

multíparas fue a los 46.1, con rangos de 40 a 57 días. El primer estro se observó en las primíparas a los 89 días, y en las multíparas a los 74 días. En cuanto a la formación del primer folículo mayor de 14 mm, en las primíparas se observó a los 69.8 ± 23.9 y en las multíparas a los 33.6 ± 6.6 días.

2.2.7. PRESENCIA DEL TORO

Cuando se introducen machos a hembras para inducirles la ciclicidad, el efecto que éstos tienen parece ser olfativo, aumentando los pulsos de LH (Martín *et al.*, 1980; Poindron *et al.*, 1980), e induciendo un pico preovulatorio de LH y la ovulación (Fabre-Nys *et al.*, 1993). El efecto del macho es independiente de los estrógenos ováricos (Knigh *et al.*, 1978). La exposición del toro a las vacas en el posparto, puede acortar la duración de anestro posparto y/o aumentar la ovulación (Azzam *et al.*, 1991; Burns y Spitzer, 1992; Cupp *et al.*, 1993; Berardinelli *et al.*, 2005). Sin embargo, el efecto de la presencia del toro en el intervalo posparto es impredecible, y hay variaciones entre los estudios debido a la estación del año, la proporción vaca/toro y la CC al parto (Yavas y Walton, 2000a). El efecto promovido de la presencia del macho en el reinicio de la actividad cíclica está enmascarado por la buena CC con la que llegan las hembras al parto (Stumpf *et al.*, 1992). Además, el efecto macho sólo se logra si los toros montan inmediata y continuamente a las vacas después del parto. Sin embargo, aún no se conocen todos los aspectos fisiológicos que explican este hecho (Custer *et al.*, 1990; Yavas y Walton, 2000a).

2.3. MÉTODOS PARA RESOLVER EL ANESTRO POSPARTO

Cuando se aplica un tratamiento tendiente a solucionar el problema de anestro posparto, se debe considerar que es necesario un periodo previo de exposición a progesterona para que el sistema hipotálamo-hipófisis-gónada desencadene los eventos hormonales que permiten que ocurra la ovulación. El implementar la manipulación estral a través de hormonas exógenas es con la intención de obtener resultados más predecibles y facilitar la IA, en comparación

con la aplicación sólo de cambios en el manejo, tales como la manipulación de la CC o el mejoramiento de la dieta alimenticia después del parto, que usualmente tiene ciertos efectos sobre la sincronización del estro (Dimmick *et al.*, 1991; Rhodes *et al.*, 2003).

Breuel *et al.* (1993), observaron que en la primera ovulación posparto en vacas productoras de carne, hay presencia de fases lúteas cortas y ausencia de conducta estral. Por lo tanto, en estos casos el principal objetivo al utilizar progesterona es el de preparar al cerebro y al útero a superar esta deficiencia, haciendo que la primera ovulación se acompañe de estro y la subsecuente fase lútea sea de duración normal.

Cuando se inducen niveles altos de progesterona, se restringe el desarrollo folicular; sin embargo, cuando los niveles se reducen rápidamente logra completarse dicho desarrollo sustentado por LH y FSH, dando como resultado la síntesis y liberación suficiente de estradiol para producir un estro con ovulación (Dimmick *et al.*, 1991).

Se han evaluado diferentes tratamientos para la sincronización de estros, basados en la aplicación de progesterona y progestágenos, ya sea en forma de dispositivos intravaginales, tales como el de liberación controlada (CIDR), o el liberador de progesterona (PRID), implantes subcutáneos (norgestomet, Crestar), o por vía oral (acetato de melengestrol, MGA). También se han probado estos tratamientos en combinación con la administración conjunta de GnRH, eCG, FSH, hCG, PGF2 α y estrógenos (Odde, 1990; Macmillan y Peterson, 1993; Yavas y Walton, 2000a; Bó *et al.*, 2003). Lo que se pretende es que los tratamientos puedan controlar el desarrollo folicular y la actividad lútea para obtener altos porcentajes de gestación con IATF, evitando la detección de estros. Además, los protocolos de los tratamientos deben ser capaces de inducir el estro y la ovulación en animales anéstricos (Bó *et al.*, 2003).

2.3.1. SINCRONIZACIÓN DEL DESARROLLO FOLICULAR Y LA OVULACIÓN UTILIZANDO GnRH Y PROSTAGLANDINA F2 α (PGF2 α)

El protocolo conocido como Ovsynch, fue diseñado para disminuir la variación entre las hembras en el momento de la ovulación luego del tratamiento con PGF2 α (Pursley *et al.*, 1995). Este protocolo utiliza una inyección de un análogo de GnRH, seguida de la aplicación de PGF2 α a los 7 días, una segunda aplicación de GnRH 48 h después, y finalmente IATF 16 a 24 h después de la segunda GnRH. La primera GnRH causa un pico de LH (2 h después) que provoca la ovulación o luteinización del folículo dominante presente en el momento del tratamiento, surgiendo una nueva oleada de crecimiento folicular 2 a 3 días después (Troxel *et al.*, 1993; Pursley *et al.*, 1995; Twagiramungu *et al.*, 1995; Martínez *et al.*, 1999). La PGF2 α aplicada a los 7 días lisa el CL, y la segunda GnRH sincroniza la ovulación (Twagiramungu *et al.*, 1992; Pursley *et al.*, 1995).

Se han publicado algunas variaciones al protocolo OvSynch que consisten en utilizar LH en lugar de GnRH (Martínez *et al.*, 2002), inyectar la PGF2 α en el día 6 en lugar del día 7 (Twagiramungu *et al.*, 1995), o realizar la IATF en el mismo momento en que se administra la segunda GnRH en vacas de carne con cría. Éste último es conocido como el protocolo CO-Synch, y es principalmente usado en ganado de carne, resultando altos porcentajes de preñez, comparado con la IATF después de tratamientos con norgestomet (Geary *et al.*, 1998a; Geary *et al.*, 1998b).

El protocolo OvSynch es principalmente usado en vacas lecheras, donde se sincroniza la ovulación de forma efectiva para IATF (Pursley *et al.*, 1995, 1997; Burke *et al.*, 1996), y se obtienen rangos de concepción comparables con vacas inseminadas a calor natural (Pursley *et al.*, 1997, 1998). Las tasas de concepción varían entre 26 a 55% en ganado *Bos taurus* (Zeitoun *et al.*, 1996). Se ha analizado la respuesta al protocolo de OvSynch en cebuínos (Barros, 2000). Este protocolo fue probado tanto en vacas lactantes como en no lactantes y las tasas de preñez después de la IATF fueron similares a las reportadas para ganado *Bos taurus*, oscilando entre el 42 y 48% (Barros, 2000). También, como ocurre en el

Bos taurus, los resultados de preñez en novillonas han sido variables, con porcentajes que oscilan entre 21 y 43% (McGowan, 1999).

Fig. 1. Esquema del protocolo Ovsynch para sincronizar el desarrollo folicular, la ovulación y realizar la inseminación artificial a tiempo fijo.

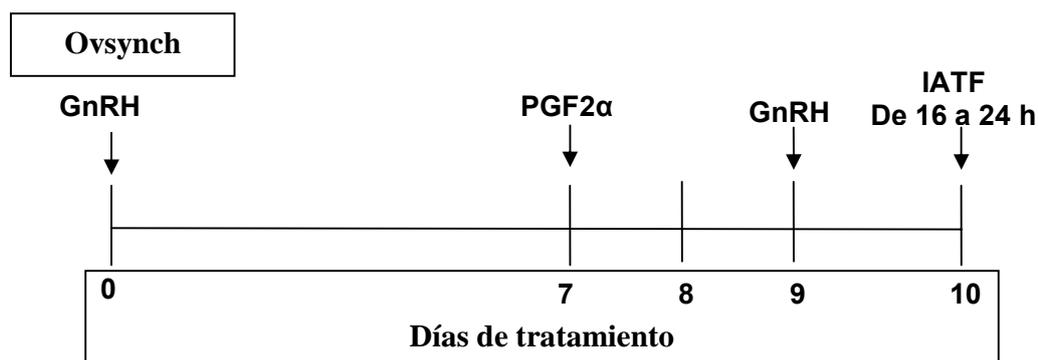
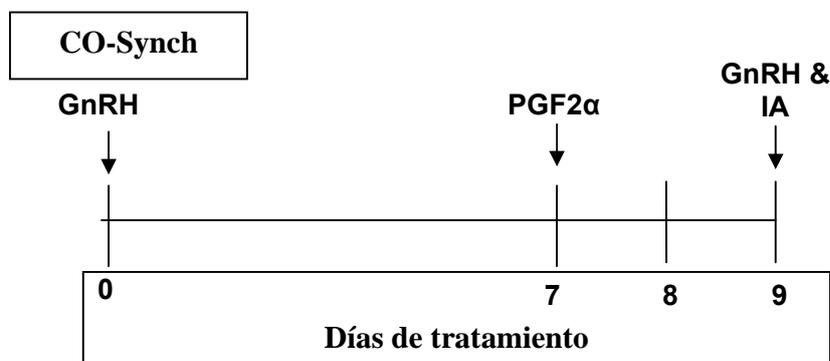


Fig. 2. Esquema del protocolo CO-Synch para sincronizar el desarrollo folicular, la ovulación y realizar la inseminación artificial a tiempo fijo.



Barros *et al.* (2000), diseñaron un protocolo de IATF similar al OvSynch, pero sustituyendo la segunda aplicación de GnRH por 1 mg de benzoato de estradiol (BE), administrado a las 24 h de la PGF2α. En este caso, se realiza la IATF 30 a 34 h después del BE. Este protocolo fue probado en 53 vacas Nelore

cíclicas y lactantes, con 60 a 90 días posparto, resultando en una tasa de preñez del 43.3% (Fernández *et al.*, 2001). Sin embargo, las tasas de preñez en vacas en anestro fueron del 14.9% en vacas tratadas con el protocolo OvSynch, y 19.1% en vacas tratadas con el OvSynch+BE (Fernández *et al.*, 2001). Por lo tanto, el protocolo OvSynch y sus variantes han demostrado ser muy sensibles al estadio fisiológico de las hembras a las que se aplican; es decir, estos tratamientos no son efectivos en hembras en anestro, y deben de ser utilizados solamente con altas tasas de ciclicidad, condición no siempre encontrada en explotaciones productoras de leche y carne en los trópicos (Bó, 2002; Bó y Baruselli, 2002).

2.3.2. TRATAMIENTOS CON DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES PARA SINCRONIZAR EL DESARROLLO FOLICULAR Y OVULACIÓN

El uso de los dispositivos intravaginales liberadores de progesterona (P4) junto con BE, es uno de los más populares tratamientos para la aplicación de programas de IATF en ganado productor de carne y leche (Macmillan y Burke, 1996; Bó *et al.*, 2002a,c). Los tratamientos más usados en *Bos indicus* son similares a los que se aplican en *Bos taurus*. Éstos consisten en la aplicación del dispositivo intravaginal (día 0), más la administración intramuscular de 2 mg de BE en vacas y novillonas (Bó *et al.*, 2002a,c), o 1 mg de BE en novillonas (Martínez *et al.*, 2000, 2002b; Cavalieri *et al.*, 2002), para sincronizar el desarrollo folicular. El dispositivo se retira 7 u 8 días después y en ese momento se administra PGF2 α para inducir la luteólisis. A las 24 h de retirado el dispositivo, se aplica 1 mg de BE vía intramuscular, para sincronizar la ovulación. La IATF se realiza en ganado *Bos indicus* 52 a 56 h pos-retiro del dispositivo (Bo *et al.*, 2002c).

Inicialmente, el BE era aplicado en una cápsula que venía junto con el dispositivo (Macmillan y Peterson, 1993; Macmillan y Burke, 1996). Sin embargo, trabajos posteriores demostraron que la administración del BE vía intramuscular resultaba ser más efectiva para sincronizar las oleadas foliculares (Bó *et al.*, 1996). A pesar de esto, la segunda inyección de BE (1 mg EB i.m.) aplicada a las 24 h del retiro del dispositivo era esencial, con lo que se ha obtenido mayor

sincronización del estro (Lemaster *et al.*, 1999), ovulación (Cutaia *et al.*, 2001a), y mejores tasas de preñez (Colazo *et al.*, 1999), en comparación a cuando no se aplicaba el BE después de retirar el dispositivo.

En un estudio realizado con novillonas Cebú, la inserción de un CIDR por 8 días resultó en mejores tasas de preñez, en comparación con las tratadas por 7 días (8 días: 54.1%, 40/74 *versus* 7 días 39.4%, 28/71; Colazo *et al.*, 1999). Sin embargo, Yelich (2002) no encontró diferencias significativas en las tasas de preñez en vacas *Bos indicus* x *Bos taurus* tratadas con CIDR por 7 u 8 días. En este estudio, la ovulación fue inducida con GnRH aplicada al momento de la IATF, 48 h pos-retiro del CIDR. Así también, los rangos de preñez en vacas tratadas con BE al momento de la inserción del CIDR fueron altos en comparación con aquellas que no lo recibieron. Por lo tanto, el uso de BE al momento de la inserción del dispositivo de P4 es esencial para inducir la regresión del folículo dominante y la emergencia de una nueva oleada folicular, evitando los efectos adversos de un folículo dominante persistente sobre la tasa de preñez (Bó *et al.*, 2003).

Recientemente, se ha encontrado una tasa promedio de preñez con IATF de 51.3%, variando de 28.3% (vacas amamantando con CC de 2 en escala de 1 a 5) a 66.9% (vacas amamantando con CC de 3.5; Bó *et al.*, 2002c), en vacas o novillonas tratadas con dispositivos liberadores de progesterona y BE con IATF 50-56 h pos-retiro del dispositivo.

Otra alternativa para incrementar las tasas de gestación en programas de IATF en ganado *Bos indicus* en anestro puede ser la adición de 300–500 UI de eCG al momento del retiro del dispositivo liberador de P4 (Roche *et al.*, 1992, Macmillan y Peterson, 1993; Macmillan y Burke, 1996). Los tratamientos con eCG han demostrado incrementar la ciclicidad y las tasas de preñez en vacas con estrés nutricional (Roche *et al.*, 1992; Macmillan y Peterson, 1993; Macmillan y Burke, 1996). Esto es debido a que la eCG puede inducir el desarrollo folicular y la ovulación (Murphy y Pescador, 1997). Sin embargo, no hay reportes que comparen el uso del eCG al momento del retiro del dispositivo de progesterona

con la inyección de BE a las 24 h pos-retiro del dispositivo, en programas de IATF con ganado *Bos indicus* (Bó *et al.*, 2003).

En un estudio realizado por Cutaia *et al.* (2003), 181 vacas Braford lactando (1/3 Brahman, 5/8 Hereford), con 60 a 90 días posparto y CC de 1.5 a 2.5 (escala de 1 a 5), fueron tratadas con un PRID (1.55 g de P4; Sanofi, Francia) y 2 mg de BE en el día 0. En el día 8, el PRID fue retirado y todas las vacas recibieron una inyección de PGF2 α . Las vacas fueron distribuidas aleatoriamente para recibir 400 UI de ecG en el día 8 (grupo eCG), o 1mg de BE i.m. en el día 9 (grupo BE), ó eCG en el día 8 y BE en el día 9 (grupo eCG+BE). Las vacas recibieron IATF de 52 a 56 h pos-retiro del PRID. Al día 0, 36.5% de las vacas tenían CL, 37.0% tenían folículos palpables de medianos a grandes (≥ 8 mm de diámetro), y 26.5% no tenían estructuras ováricas detectables (folículos pequeños, < 8 mm de diámetro). El grupo eCG+BE tuvo mayor tasa de gestación, en comparación con los grupos eCG y EB, sin importar que las vacas del grupo eCG+BE tuvieron folículos mas pequeños al inicio del experimento.

En otro estudio llevado a cabo por Baruselli *et al.* (2003), 214 vacas Nelore fueron tratadas de forma similar que en el de Cutaia *et al.* (2003), con la excepción que se usó el CIDR-B, y sólo se evaluaron los tratamientos de los grupos BE y eCG+BE. Al día 0, 24.3% de las vacas tuvieron CL, 57.0% con folículos medianos a grandes (≥ 8 mm de diámetro), y 18.7% con folículos pequeños (≤ 8 mm de diámetro). El grupo eCG tuvo mayor tasa de gestación que el grupo BE. Estos resultados sugieren que el uso de eCG al momento del retiro del CIDR en programas de IATF, es menos satisfactorio que la aplicación de BE 24 h después del retiro del CIDR.

Además del tratamiento con BE, se puede sincronizar la ovulación utilizando GnRH al momento de la IATF (Bó *et al.*, 2000; Martínez *et al.*, 2002). En un trabajo realizado con 433 vacas Brangus y Angus con cría, tratadas con un CIDR por 8 días, se obtuvo una tasa de gestación de 57.7% en las vacas tratadas con BE a las 24 h de retirado el CIDR, y 56.4% en las tratadas con 50 mg de

GnRH (Cystorelin, Merial) al momento de la IATF, que se realizó en ambos grupos entre las 52 y 56 h después del retiro del CIDR (Bó *et al.*, 2000).

Los análogos de la GnRH pueden usarse al inicio de los tratamientos con progesterona para causar regresión del folículo dominante presente y sincronizar el desarrollo de una nueva oleada folicular. Estos protocolos tienen el efecto adicional de inducir ovulación y la formación de un CL en la mayoría de las vacas, obteniendo elevadas concentraciones de progesterona en sangre, en comparación con las vacas que no reciben GnRH (Roche *et al.*, 1999; Burke *et al.*, 2000; Xu *et al.*, 2000a). Para asegurar la ausencia de tejido lúteo después de retirar el dispositivo, la PGF2 α es generalmente incluida en estos protocolos (Rhodes *et al.*, 2003). En un estudio se demostró que el tratamiento con GnRH al momento de la inserción de un CIDR por 7 días, seguido de una PGF2 α al momento del retiro del dispositivo, y de una segunda inyección de GnRH dos días después del retiro del dispositivo, mejoró las tasas de preñez en vacas anéstricas, en comparación con vacas tratadas sólo con GnRH, PGF2 α y GnRH (Lamb *et al.*, 2001). Este tipo de tratamientos ha dado buenos resultados en vacas anéstricas, tanto productoras de carne como lecheras, igualando o mejorando a los que se obtienen con otros protocolos hormonales (Rhodes *et al.*, 2003). La tasa de preñez en vacas productoras de carne anéstricas que recibieron GnRH al momento de la inserción del CIDR, y que recibieron IATF, fue similar entre las hembras que ovularon y las que no ovularon en respuesta al tratamiento inicial de GnRH (Stevenson *et al.*, 2003). En otro estudio, Johnson *et al.* (2000), con un grupo de vacas posparto que incluía hembras ciclando y en anestro, demostraron que la inyección de GnRH al momento de la inserción del CIDR incrementó la tasa de preñez con IATF, en comparación con las hembras que no recibieron GnRH.

2.3.3. TRATAMIENTOS CON IMPLANTES DE APLICACIÓN SUBCUTÁNEA AURICULAR PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO

Actualmente, existe un implante de silicón que contiene 3 mg de norgestomet (Crestar, Intervet), de aplicación subcutánea auricular, que se deja 9

días *in situ*, con la aplicación concomitante de 5 mg de valerato de estradiol (VE) y 3 mg de norgestomet en suspensión oleosa de 2 ml. Después de retirado el implante, las vacas y novillonas son inseminadas 12 h pos-estro detectado, o reciben IATF, las novillonas a las 48 h y las vacas a las 56 h (Bó *et al.*, 2003). El propósito original de la porción inyectable de este tratamiento era inducir la luteólisis con el VE, y obtener altos niveles inmediatos de progesterona con el norgestomet, que luego serían mantenidos con la liberación lenta del implante subcutáneo. Sin embargo, se descubrió que el VE inducía también a través de la supresión de los folículos presentes el desarrollo de una nueva oleada folicular 3 a 8 días después (Bó *et al.*, 1993a; Mapletoft *et al.*, 1999).

Los resultados obtenidos en vacas *Bos indicus* con este método han sido satisfactorios, pero los resultados en novillonas son variables (McGowan, 1999). Se piensa que esta baja fertilidad asociada con el tratamiento del implante de norgestomet y el VE (NVE), tal vez se deba a las excesivas concentraciones circulantes de estradiol durante el tratamiento y previo a la ovulación (Cavalieri *et al.*, 1997). Altas concentraciones de estradiol por periodos muy largos de tiempo pueden resultar en una supresión prolongada del crecimiento folicular (Bó *et al.*, 1993a). Asimismo, Mikeska y Williams (1988), en novillonas Cebú, encontraron que el 25% de las tratadas con norgestomet no presentaron celo en el tiempo esperado (48 h pos-retiro del implante), ni tampoco hubo un pico de LH dentro de las 12 h esperadas del inicio del estro; ambos eventos se asociaron a la falta de ovulación.

Otra alternativa de tratamiento NVE es la adición de 400 UI de eCG al retirar el implante, para estimular el crecimiento folicular (Cavalieri *et al.*, 1997). Este tratamiento ha sido muy utilizado en vacas de posparto (Humblot *et al.*, 1996; Bó *et al.*, 2002b). Cavalieri *et al.* (1997), demostraron que la sincronización del estro, ovulación y el pico preovulatorio de LH fue mejor en vacas *Bos Indicus* no lactantes tratadas eCG, en comparación con aquéllas no tratadas con eCG al momento de retirar el implante (intervalo desde el retiro del implante a la ovulación de 61 a 83 h vs 66 a 114 h, respectivamente). Esto podría sugerir que la actividad

de FSH de la eCG fue suficiente para superar el efecto de supresión del VE de larga acción (Bó *et al.*, 2003). Otros tratamientos, con la adición de 1 mg de BE a las 24 h después del retiro del implante, o con GnRH de 30 a 36 h pos-retiro del implante, han demostrado sincronizar la ovulación e incrementar las tasas de gestación en vacas *Bos indicus* (Bó *et al.*, 2002b).

2.3.4. SINCRONIZACIÓN CON ACETATO DE MELENGESTROL (MGA) Y PGF2 α

Otro progestágeno que demostró ser efectivo para la sincronización de estros en vacas y novillonas productoras de carne es el MGA, el cual es un progestágeno de administración oral, que usualmente se mezcla con granos (Patterson *et al.*, 1989). Sus ventajas incluyen el bajo costo y su muy baja toxicidad. Los protocolos de sincronización con MGA han resultado en una buena sincronización de los celos pero baja fertilidad, debido al desarrollo de un folículo persistente y la ovulación de un ovocito no viable (Williams *et al.*, 2000). Por esto, se desarrolló un protocolo alternativo que consiste en administrar 0.5 mg de MGA/cabeza/día por 14 días, seguido de una inyección de PGF2 α 17 días después de suspender la administración de MGA (Patterson *et al.*, 1989); la tasa de gestación será óptima si se realiza IA a las 12 h de observado el celo, pero los resultados con este esquema siguen dependiendo de la detección de celos.

Dado esto, se desarrolló un protocolo basado en que la combinación de estrógenos y progestágenos induce la regresión de todos los folículos antrales presentes en el momento del tratamiento, sincronizando el comienzo de una nueva oleada folicular (Bó *et al.*, 1995). El tratamiento consiste en la administración de 0.5 mg/cabeza/día de MGA durante 7 días, y la administración de 5 mg de 17 β -estradiol y 100 mg de P4 vía intramuscular el primer día en que se ofrece MGA. El último día de administración de MGA se aplica una dosis luteolítica de PGF2 α . Se puede inducir la ovulación con 1 mg de BE a las 24 h de la PGF2 α , o con GnRH a las 48 h de la PGF2 α (Martínez *et al.*, 2002b). Aunque, este tratamiento es muy barato y efectivo, es de difícil aplicación en sistemas pastoriles

con ganado cebuino, debido a la dificultad de acostumbrar a los animales al consumo de granos (y al MGA), y a la variabilidad en el consumo de la ración (Bó y Baruselli, 2002).

2.4. ESTUDIO DE LA DINÁMICA FOLICULAR DURANTE EL CICLO ESTRAL

Antes de utilizar la ultrasonografía en el ganado, no se sabía con precisión si los folículos antrales tenían un patrón diferente al de crecimiento y atresia durante el ciclo estral (Fortune *et al.*, 1988; Fortune, 1994), o si había dos periodos de movimiento folicular (Matton *et al.*, 1981). Actualmente, se ha descrito que en el ganado bovino el crecimiento folicular se caracteriza por la presencia de dos o tres oleadas foliculares por ciclo estral, y en ganado *Bos indicus* se han descrito hasta cuatro oleadas (Pierson y Ginther, 1987a,b; Sirois y Fortune, 1988; Ginther *et al.*, 1989a,b; Knopf *et al.*, 1989; Adams y Pierson, 1995; Rhodes *et al.*, 1995; Zeitoun *et al.*, 1996; Viana *et al.*, 1998), así como el desarrollo de uno o dos folículos dominantes que son atrésicos antes de que el folículo preovulatorio madure y se produzca la ovulación (Ginther *et al.*, 1989a; Driancourt, 1991).

El desarrollo folicular en las especies mono-ovulatorias pasa por los estados de reclutamiento, selección y dominancia. El reclutamiento es un proceso por el cual un grupo de folículos antrales comienza a crecer bajo la estimulación de gonadotropinas. Durante la selección, un solo folículo con capacidad potencial de alcanzar la ovulación es elegido y evita la atresia. Finalmente, en la dominancia el folículo seleccionado inhibe el reclutamiento de un nuevo grupo de folículos (Hansel y Convey 1983). El primer evento está determinado por la oleada de FSH que ocurre cercana a la ovulación, en la etapa temprana del ciclo estral, y aquellos folículos de 2 a 4 mm con receptores para FSH inician un reclutamiento, pudiendo detectarse por medio de ultrasonido varios folículos de 6 a 9 mm (Roche y Boland 1991; Adams *et al.*, 1992). Después de 2 a 4 días, ocurre la selección de un sólo folículo, y el resto de los folículos acompañantes disminuyen su tamaño y sufren atresia (Savio *et al.*, 1988). No se ha podido comprobar la existencia de un mecanismo único para explicar el proceso de selección; sin embargo, prevalece el

concepto de que una vez que el reclutamiento comienza, debido a la estimulación de gonadotropinas, el folículo que predomina coordina la expresión de genes de factores de crecimiento, enzimas esteroideogénicas e inhibina, lo que lo convierte en el folículo seleccionado (Fortune, 1994).

El folículo dominante de la primera oleada folicular incrementa su tamaño aproximadamente al día 8, entrando a la fase meseta de crecimiento entre los días 8 y 10 del ciclo estral, y a partir de aquí gradualmente comienza a disminuir su tamaño. Durante los días 10 a 12 del ciclo estral se detiene la dominancia del primer folículo, y comienza el reclutamiento de la segunda oleada folicular (Campbell *et al.*, 1995; Ginther *et al.*, 1996). Los mecanismos que regulan el lapso de vida del folículo dominante de la primera onda son poco conocidos; sin embargo, se piensa que el incremento de las concentraciones de progesterona plasmática, producida por el CL de reciente formación, disminuye la frecuencia de pulsatilidad de LH, y que el inadecuado soporte de LH produce la atresia del folículo dominante (Rahe *et al.*, 1980; Savio *et al.*, 1990). Después de la regresión del folículo dominante de la primera oleada, se inicia una segunda oleada de reclutamiento, selección y dominancia, y la maduración final del segundo folículo dominante se asocia con la regresión del CL y la ovulación. Dado que también el segundo folículo dominante puede sufrir atresia, si esto ocurre puede iniciarse una tercera oleada de desarrollo folicular (Ginther *et al.*, 1989; Savio *et al.*, 1988; Sirois y Fortune 1988). En las vacas que tienen tres oleadas, el tamaño del folículo dominante de la segunda oleada es más pequeño que el de la primera oleada (Sirois y Fortune 1988; Savio *et al.*, 1993), y aunque la mayoría de las vacas tienen 2 ó 3 oleadas de crecimiento folicular, se han reportado ciclos estrales con 4 oleadas (Savio *et al.*, 1988; Sirois y Fortune, 1988).

Para el estudio de la población folicular durante los diferentes estados del ciclo estral, el tamaño de los folículos puede dividirse en diferentes categorías. La categoría 1 comprende a los folículos de 3 a 4 mm, la categoría 2 incluye a los de tamaño de 5 a 9 mm, y los de categoría 3 son los de tamaño igual o mayor a 10 mm. Durante la fase temprana del ciclo estral, el número de folículos de categoría

1 decrece, mientras que el número de folículos de la categoría 2 se incrementa. El aumento en el número de folículos de la categoría 2 se debe al reclutamiento de los folículos de la categoría 1 (fase de reclutamiento). Aproximadamente durante los días 4 y 5 del ciclo estral, un folículo se selecciona y entra dentro de la categoría 3 de folículos. En este momento, el número de folículos de categoría 2 comienza a declinar, porque los folículos que no se seleccionan inician la atresia y disminuyen de tamaño. Este número de folículos permanece sin sufrir cambios hasta el día 10 y 12 del ciclo estral, cuando el primer folículo dominante se atresia al perder dominancia, permitiendo que se inicie una nueva oleada de reclutamiento (Pierson y Ginther, 1987; Roche y Boland, 1991; Lucy *et al.*, 1992).

El desarrollo folicular en oleadas continúa después del parto, y hay gran aumento de FSH que reclutará los folículos de la primera onda folicular (Wiltbank *et al.*, 2002). Sin embargo, hay una inadecuada frecuencia de pulsos de GnRH y LH, lo que afecta el crecimiento final del folículo dominante y su ovulación, debido a una mala nutrición y el amamantamiento (Bó, 2002; Pérez-Hernández *et al.*, 2001).

Si las condiciones nutricionales son relativamente bajas, la vaca tiene oleadas foliculares con folículos dominantes que superan los 8 mm de diámetro (Bó, 2002), lo que Wiltbank *et al.* (2002) describieron como “condición anovulatoria con crecimiento folicular superior a la desviación, pero sin llegar a tamaño preovulatorio”, también llamado comúnmente “anestro superficial” (Bó, 2002).

Si las condiciones nutricionales son muy malas, se puede presentar otra condición anovulatoria definida como “condición anovulatoria con crecimiento folicular hasta la emergencia”, generalmente llamada “anestro profundo”. En este caso, los folículos sólo crecen hasta 6 mm de diámetro ó menos (Bó, 2002). En un estudio realizado por Ruiz y Olivera (1999) en vacas cebuínas en malas condiciones nutricionales, encontraron que durante varios meses después del parto muchas de estas vacas tenían períodos en los cuales los folículos crecían hasta un diámetro de 6 mm y muy raramente hasta 8 mm, períodos que ellos denominaron como de interdominancia. Esta condición se mantuvo durante los 6

meses posparto. A partir de los 7 meses posparto, las oleadas foliculares comenzaron a ser más regulares y con folículos más grandes. Se puede especular que esta condición de anestro profundo no sólo será producida por el efecto de la nutrición sobre los pulsos de LH, sino también sobre FSH, pero esta hipótesis todavía debe ser probada. No obstante, el hecho importante es que estas vacas no responderán a ningún tratamiento hormonal hasta que no se solucione el problema de subnutrición (Bó, 2002).

2.5. PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DEL GANADO CEBUÍNO

La mayoría de los bovinos se localizan en regiones tropicales, caracterizadas por elevadas temperaturas y altos índices de precipitación pluvial, lo cual suministra las condiciones para el crecimiento de forrajes y por ende se obtienen bajos costos en la producción de carne. En los trópicos, los bovinos predominantes son *Bos indicus*, debido a su gran capacidad de adaptación a las altas temperaturas, humedad y condiciones de manejo (Baruselli *et al.*, 2004).

Es por ello que la crianza de ganado *Bos indicus* ha hecho una significativa contribución a la industria cárnica y lechera en las regiones tropicales del mundo, aunque los datos indiquen que los parámetros reproductivos como producción láctea, supervivencia del becerro y periodo de lactación, han dado resultados tanto superiores como inferiores (Chenoweth, 1994). Sin embargo, la adaptación del ganado *Bos indicus* a los ambientes tropicales y subtropicales le ha permitido dispersarse alrededor del mundo, y aunque se considera que posee bajos índices reproductivos en comparación con el ganado *Bos taurus* en climas templados, sucede lo contrario cuando estas dos especies son comparadas en ambientes tropicales, bajo condiciones estresantes como altas temperaturas, humedad, ectoparásitos y baja calidad de los forrajes. En estos casos, los índices productivos, reproductivos y de supervivencia son más altos en ganado *Bos indicus* (Bó *et al.*, 2003).

En la ganadería productora de carne, una hembra criada bajo condiciones favorables tiene el potencial para producir una cría por año, con un intervalo entre

partos de 12 meses (Stagg *et al.*, 1995). Para poder alcanzar este periodo interparto, las vacas deben quedar gestantes entre los 75 y 85 días después del parto. Sin embargo, la crianza de bovinos en condiciones tropicales presenta una alta incidencia de anestro posparto, lo que incrementa el periodo entre partos y afecta el rendimiento reproductivo (Ruiz-Cortés y Olivera-Ángel, 1999).

En vacas lechera, la ciclicidad se reanuda entre 2 a 3 semanas posparto, lo que no ocurre en vacas productoras de carne, donde el reinicio de la ciclicidad se puede presentar entre 35 a 60 días posparto, o más. Generalmente, sólo 35 a 50% de las vacas en producción reinician su ciclicidad para este momento. Por lo tanto, repetir el empadre o seleccionar a las vacas anéstricas es necesario para obtener mejores tasas de preñez (Beal *et al.*, 1984).

La información relacionada con la reproducción de ganado Cebú es muy limitada, en comparación con el ganado europeo. Sin embargo, la información disponible no sugiere que existan grandes diferencias en la fisiología de la reproducción entre el ganado *Bos taurus* y *Bos indicus* (Abeygunawardena y Dematawewa, 2004). El ganado Cebú, aunque está bien adaptado a las regiones tropicales y subtropicales, muestra una pubertad más tardía (anestro prepuberal) y periodos pospartos más prolongados (anestro posparto), en comparación con las razas de climas templados (Syrstad, 1987; Galina y Arthur, 1989a,b; Mukasa-Mugerwa, 1989). Esto ha sido reportado debido a que existen diferencias en la relación del eje hipotálamo-hipófisis-ovarios entre el ganado Cebú y el europeo. Estas diferencias pueden ser atribuibles a la distinta fertilidad entre las dos especies, inclusive cuando se encuentran alimentadas y manejadas de forma similar (Rhodes *et al.*, 1982; D'occhio *et al.*, 1990).

Taneja (1999), mostró que el peso de una hembra adulta cebuina en condiciones tropicales va desde 280 a 650 kg, la edad al primer parto varía de 24 a 62 meses, el intervalo entre partos es de 330 a 650 días, la producción láctea va de 450 a 2700 kg por lactación, y ésta dura de 130 a 350 días.

III. HIPÓTESIS

La utilización de GnRH en combinación con progesterona natural influirá en la dinámica folicular y aumentará la tasa de ovulación en vacas anéstricas *Bos indicus* con 60 a 90 días posparto, conduciendo a un mayor porcentaje de vacas que reinician su ciclicidad.

IV. OBJETIVO GENERAL

Determinar si el empleo de GnRH en combinación con progesterona natural influye en la dinámica folicular y aumenta la tasa de ovulación en vacas anéstricas *Bos indicus* con 60 a 90 días posparto, y si esto conduce a un mayor porcentaje de vacas que reinician su ciclicidad.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la dinámica folicular en vacas *Bos indicus* tratadas con GnRH y progesterona natural.
- Cuantificar el número de horas requerido para la ovulación, después del retiro del dispositivo intravaginal y de la aplicación o no del GnRH.
- Determinar el efecto de la condición corporal, días posparto y número de partos, así como de los tratamientos, sobre la tasa de ovulación en vacas *Bos indicus* tratadas con GnRH y progesterona natural.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. LOCALIZACIÓN

El presente proyecto de investigación se realizó en un rancho comercial de bovinos productores de carne (*Bos indicus*), ubicada en el municipio de Veracruz, Ver., localizado a 19° 12' latitud norte y 99° 08' longitud oeste, a una altura de 10 msnm, con clima tropical húmedo, temperatura media anual de 25.3 °C, y precipitación pluvial media anual de 1,500 mm (García, 1981).

5.2. CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO

El presente proyecto de investigación se realizó durante los meses de septiembre a noviembre de 2006.

5.3. CARACTERÍSTICAS Y MANEJO DE LOS ANIMALES EXPERIMENTALES

Se seleccionaron 100 vacas *Bos indicus* anéstricas y lactantes, con 60 a 90 días posparto, un rango de 2 a 5 partos, de las razas Sardo Negro, Indubrasil, Nelore y Gyr, de las cuales 32 fueron excluidas del experimento por haberse encontrado ciclando al momento de colocar el dispositivo intravaginal (n=20), y por haber sido vendidas (n=12), por lo que al final sólo se incluyeron 68 hembras en el estudio.

Las hembras inicialmente se identificaron conforme a los registros existentes en el propio rancho. Posteriormente, se identificaron con numeración progresiva de acuerdo con el orden de inclusión en el estudio; además, se examinaron a través de palpación rectal durante los primeros meses previos al estudio a fin de evaluar que se encontraran libres de patologías clínicas en el aparato genital, verificar la presencia de estructuras ováricas y posteriormente, por medio de ultrasonografía, se confirmó la evaluación inicial. Asimismo, se mantuvieron bajo el manejo constante de la explotación, con respecto a las

condiciones de alimentación (pastoreo) y sanidad (desparasitación externa cada 21 días e interna cada 120 días y vacunaciones contra enfermedades comunes como derriengue, fiebre carbonosa, carbón sintomático, complejo respiratorio bovino y brucelosis).

El sistema de amamantamiento empleado en el rancho es continuo, tradicional en la zona, consistente en que el becerro permanece con la madre desde que nace hasta su destete a los 7 meses de vida.

Las vacas se manejaron en pastoreo en aproximadamente 300 ha sembradas con pasto Estrella de África (*Cynodon plectostachyus*), Estrella Santo Domingo (*Cynodon nlemfuensis*), Pangola (*Digitaria decumbens*), Privilegio (*Panicum Maximum*), estando presentes algunos pastos nativos como el *Paspalum spp.* y *Axonopus spp.*, predominando las praderas mixtas dentro de las instalaciones del productor ubicado en estas áreas del trópico.

5.3.1. CONDICIÓN CORPORAL (CC)

La CC de todas las hembras se evaluó cuando fueron distribuidas a los tratamientos, y al final de los mismos, incluyéndose vacas con CC de 2 a 4 en escala del 1 a 5 según Pullan (1978), donde 1 es un animal emaciado y 5 es un animal gordo.

5.4. TRATAMIENTOS

Las 68 vacas *Bos indicus* fueron distribuidas en un diseño completamente al azar en cinco tratamientos, con 15, 14, 15, 12 y 12 hembras para los tratamientos 1, 2, 3, 4 y 5, respectivamente.

5.4.1. SINCRONIZACIÓN DE LA OVULACIÓN

El día 0 del experimento las vacas fueron asignadas a uno de los siguientes cinco grupos de tratamiento:

Grupo I: recibieron 100 µg de GnRH por vía intramuscular más la aplicación de 1.9 g de progesterona natural, contenida en un dispositivo de aplicación vaginal

(CIDR, Lab. Pfizer). El CIDR permaneció *in situ* durante 7 días. A las 24 h de retirado el CIDR se aplicó 100 µg de GnRH por vía intramuscular.

Grupo II: mismo tratamiento que Grupo I, sólo que no recibieron la segunda inyección de GnRH.

Grupo III: mismo tratamiento que el Grupo I, pero solamente recibieron la inyección de GnRH 24 h después del retiro del CIDR.

Grupo IV: solamente recibieron el CIDR, que permaneció 7 días *in situ*.

Grupo V: no tuvieron ningún tratamiento, fungiendo como grupo testigo.

5.4.2. DESTETE TEMPORAL

Al momento de retirar el CIDR, los becerros fueron separados de sus madres por 48 h, y al término de este periodo regresaron a su manejo tradicional.

5.4.3. EVALUACIÓN ULTRASONOGRÁFICA DE LA ACTIVIDAD FOLICULAR

Todas las vacas incluídas en el experimento se examinaron con ultrasonografía los días -14, -7, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7, con el fin de caracterizar los cambios en las estructuras ováricas presentes. Además, la ultrasonografía se hizo cada 6 h a partir del día 8 al 10 para determinar el momento de la ovulación. Se utilizó un ultrasonido portátil Aloka modelo SSD500, con un transductor de 5.0 MHz, el cual se insertó por vía rectal y se colocó a lo largo de la superficie dorsal del cuerno del útero. Posteriormente, se realizaron movimientos laterales para examinar los ovarios. El tracto reproductivo no fue manipulado directamente antes o durante el examen ultrasonográfico. Los folículos presentes fueron medidos para evaluar la talla folicular antes y después del empleo del tratamiento inductor de la ovulación (Sirois y Fortune, 1988; Ginther *et al.*, 1989b; Taylor *et al.*, 1993).

5.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los resultados se categorizaron las variables dependientes e independientes.

Variables dependientes

1. Dinámica folicular, desde el inicio del tratamiento, después del retiro del CIDR y hasta el momento de la ovulación .
2. Número de horas requerido para la ovulación, después del retiro del dispositivo intravaginal y de la aplicación o no del GnRH.
3. Tasa general de ovulación, después del tratamiento con progesterona y GnRH.

Variables independientes

1. Grupo de tratamiento.
GnRH+CIDR+GnRH
GnRH+CIDR
CIDR+GnRH
CIDR
Testigo
2. Condición corporal.
3. Días posparto.
4. Número de partos.

Los resultados de la actividad folicular se evaluaron a través de un análisis univariado de medidas repetidas, y dentro de este método se consideraron como covariables la CC, días posparto y número de partos. Para el número de horas requerido para la ovulación y la probabilidad de que ésta ocurriera, se realizó un análisis de curvas de supervivencia del método Kaplan-Meier. Las variables nominales u ordinales (inducidas o no a la ovulación) se analizaron empleando Chi-cuadrada; para determinar el efecto de la CC, días posparto, número de partos y tratamientos sobre la tasa de ovulación, se realizó una regresión logística. Todas estas pruebas fueron del paquete estadístico SPSS (Statistical Package for Social Science versión 10).

VI. RESULTADOS

En el Cuadro 1 se muestran las variables de estudio: CC, días posparto y número de partos, con sus promedios para cada tratamiento. Se encontró diferencia estadística en la CC de las hembras entre el tratamiento 1, en comparación con el 4 y 5, y entre los tratamientos 2 y 3, comparados con el 5 ($P < 0.05$), pero no hubo diferencia entre los tratamientos 1, 2, 3, ni entre los tratamientos 2, 3 y 4, ni entre el 4 y el 5 ($P > 0.05$). Sin embargo, no hubo diferencias estadísticas por días posparto y número de partos ($P > 0.05$).

En el Cuadro 2 se muestra la dinámica folicular, con relación al número de folículos presentes por tratamiento y su diámetro folicular. No hubo diferencia estadística en el número de folículos encontrados entre los tratamientos 1 y 3 ($P > 0.05$), pero sí entre éstos con los tratamiento 2, 4 y 5 ($P < 0.05$). Tampoco se encontró diferencia entre los tratamientos 2 y 4 ($P > 0.05$), pero sí entre éstos y el tratamiento 5 ($P < 0.05$). El tratamiento 5 tuvo la menor cantidad de folículos presentes. Con relación al diámetro folicular, se encontró diferencia entre los tratamientos 1 y 2, en comparación con el tratamiento 5 ($P < 0.05$), pero no entre los tratamientos 1, 2, 3 y 4 ($P > 0.05$), ni entre el 3 y 4 con el tratamiento 5 ($P > 0.05$), el cual tuvo la menor talla folicular de todos.

También se analizaron como covariables la CC, días posparto y número de partos. Se encontró diferencia estadística ($P < 0.05$) por efecto de la CC sobre la dinámica folicular en los distintos tratamientos. Así, se pudo observar que las vacas con CC > 2.5 tuvieron mejor desarrollo folicular que las que tenían una CC < 2.5 ($P < 0.05$). Los días posparto y número de partos no tuvieron efecto sobre la dinámica folicular ($P > 0.05$).

En el Cuadro 3 se muestra el número de animales que ovularon y la tasa de ovulación por tratamientos ($P < 0.05$). En el Grupo 1, la vaca que se presenta como que no ovuló presentó ovulación intermedia después de la primera aplicación de GnRH (Gráfica 1), es decir, ovuló mientras el CIDR estaba puesto y se detectó un CL al día 8 de tratamiento, 24 h después del retiro del CIDR y de la segunda aplicación de GnRH. No obstante, a pesar de existir un folículo preovulatorio en

este momento, no se produjo una segunda ovulación, lo que no sucedió con dos vacas más del mismo grupo, las cuales también presentaron ovulación intermedia (Gráficas 2 y 3) y CL ese mismo día. Estas dos hembras después del retiro del CIDR y de la segunda aplicación de GnRH sí presentaron una segunda ovulación del mismo ovario donde se les había detectado el CL. Sin embargo, estos 3 casos se mencionan como ejemplo ya que no se encontró evidencia de que este evento fuera estadísticamente significativo ($P > 0.05$).

En la Gráfica 4 se observa la probabilidad de ovulación de los folículos. En el tratamiento 1 la probabilidad de ovulación en un tiempo promedio de 50 h posretiro del CIDR fue más alta, en comparación con los tratamientos 2, 3, 4 y 5. Sin embargo, mediante el método Kaplan-Meier sólo se encontró diferencia estadística ($P < 0.05$) en el tiempo de ovulación entre los tratamientos 1, 2, y 3, en comparación con los tratamientos 4 y 5. Por otro lado, la probabilidad de que los folículos del tratamiento 2 y 3 ovularan en un tiempo promedio de 60 h fue similar ($P > 0.05$), y hubo diferencia estadística de éstos con los tratamientos 4 y 5 ($P < 0.05$). La probabilidad de ovulación en un tiempo promedio de 76 h entre los folículos del tratamiento 4 y 5 fue similar ($P > 0.05$).

En la Gráfica 5 se muestra en número de vacas *Bos indicus* que ovularon según el tratamiento aplicado en dos rangos de tiempo, uno ≤ 60 h y otro ≥ 60 h después del retiro del CIDR, y se pudo apreciar que entre estos dos grupos existen diferencias, dado que, de las 48 vacas anéstricas que ovularon, 31 animales ovularon en un tiempo ≤ 60 h y 17 en un tiempo ≥ 60 h ($P < 0.05$). En el número de vacas que ovularon dentro del grupo de ≤ 60 h existen diferencias entre el tratamientos 1 comparado con el 2, 3, 4 y 5, y entre los tratamientos 2 y 3 comparados con el 4 y 5 y de estos dos últimos entre si, pero no se encontraron diferencias entre el tratamiento 2 y 3, siendo el tratamiento 5 el que no presentó ninguna ovulación en este periodo de tiempo ($P < 0.05$). En el número de ovulaciones del grupo de ≥ 60 h se encontraron diferencias entre el tratamiento 1 comparado con el tratamiento 2 y 3, y de este ultimo comparado con el 4 y 5 ($P < 0.05$). No se encontraron diferencias entre los tratamientos 1, 4 y 5, ni entre el

2, 3 y 4 ($P>0.05$). Siendo el tratamiento 1 el que menos ovulaciones tuvo en este periodo de tiempo.

En el Cuadro 4 y Gráfica 6 se muestra el promedio de horas requerido para la ovulación después del retiro del CIDR, por tratamientos. El tiempo promedio en que se presentó la ovulación fue de 50, 60, 58, 72 y 77 h para los tratamientos 1, 2, 3, 4 y 5 respectivamente. Se encontró diferencia estadística en el tiempo de ovulación entre los tratamientos 1, 2 y 3, en comparación con los tratamientos 4 y 5 ($P<0.05$), pero no hubo diferencia entre los tratamientos 1, 2 y 3, ni entre los tratamientos 4 y 5 ($P>0.05$).

En el presente estudio se analizaron los efectos del tratamiento, CC, días posparto y número de partos sobre la tasa de ovulación, y se encontró efecto del tratamiento sobre la tasa de ovulación ($P<0.05$), pero no de la CC, días posparto y número de partos sobre la tasa de ovulación ($P>0.05$).

CUADRO 1. Condiciones previas al estudio y distribución de las hembras *Bos indicus* anéstricas en los tratamientos y/o grupos; Grupo=1 (GnRH+CIDR+GnRH), Grupo=2 (GnRH+CIDR), Grupo=3 (CIDR+GnRH), Grupo=4 (CIDR), Grupo=5 (Testigo).

| VARIABLE | | GRUPOS | | | | | |
|--------------------|------------------|--|--|--|--|--|-----------------------------|
| | | GnRH+CIDR+GnRH n=15 | GnRH+CIDR n=14 | CIDR+GnRH n=15 | CIDR n=12 | TESTIGO n=12 | TOTAL n=68 |
| CONDICIÓN CORPORAL | Rango 2 - 4 | (Media ± D.E) 3.2 ± 0.5 ^a | (Media ± D.E) 2.7 ± 0.7 ^{ab} | (Media ± D.E) 2.9 ± 0.5 ^{ab} | (Media ± D.E) 2.5 ± 0.4 ^{bc} | (Media ± D.E) 2.1 ± 0.3 ^c | (Media ± D.E) 2.7 ± 0.6 |
| DÍAS POSPARTO | Rango 60 - 90 | (Media ± D.E) 83.5 ± 8.8 ^a | (Media ± D.E) 83.2 ± 8.0 ^a | (Media ± D.E) 76.7 ± 8.0 ^a | (Media ± D.E) 79.6 ± 8.0 ^a | (Media ± D.E) 84.6 ± 8.6 ^a | (Media ± D.E) 81.4 ± 8.6 |
| NÚMERO DE PARTOS | Rango 2 - 5 | (Media ± D.E) 4.3 ± 0.8 ^a | (Media ± D.E) 4.6 ± 0.6 ^a | (Media ± D.E) 4.3 ± 0.7 ^a | (Media ± D.E) 3.9 ± 1.0 ^a | (Media ± D.E) 4.1 ± 1.0 ^a | (Media ± D.E) 4.2 ± 0.8 |

^{a,b,c}Diferente literal por fila indica diferencia estadística (P<0.05).

CUADRO 2. Número de folículos, valores mínimos, máximos y promedio del diámetro folicular entre los diferentes grupos experimentales.

| GRUPOS | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------------------|------|---------------------------------------|------|--|------|--|------|---------------------------------------|------|
| | GnRH+CIDR+GnRH n= 15/15 | | GnRH+CIDR n= 14/14 | | CIDR+GnRH n= 15/15 | | CIDR n= 12/12 | | TESTIGO n= 12/12 | |
| No. de folículos por tratamiento | 111 ^a | | 97 ^b | | 112 ^a | | 95 ^b | | 92 ^c | |
| Diámetro folicular (mm) | Mín. | Máx. | Mín. | Máx. | Mín. | Máx. | Mín. | Máx. | Mín. | Máx. |
| | 1.5 | 10.8 | 1 | 11 | 2 | 10.8 | 1 | 9.2 | 1 | 11 |
| | Media ± D.E 5 ± 2.4 ^a | | Media ± D.E 4.8 ± 2.0 ^a | | Media ± D.E 4.7 ± 2.1 ^{ab} | | Media ± D.E 4.3 ± 1.9 ^{ab} | | Media ± D.E 3.9 ± 1.8 ^b | |

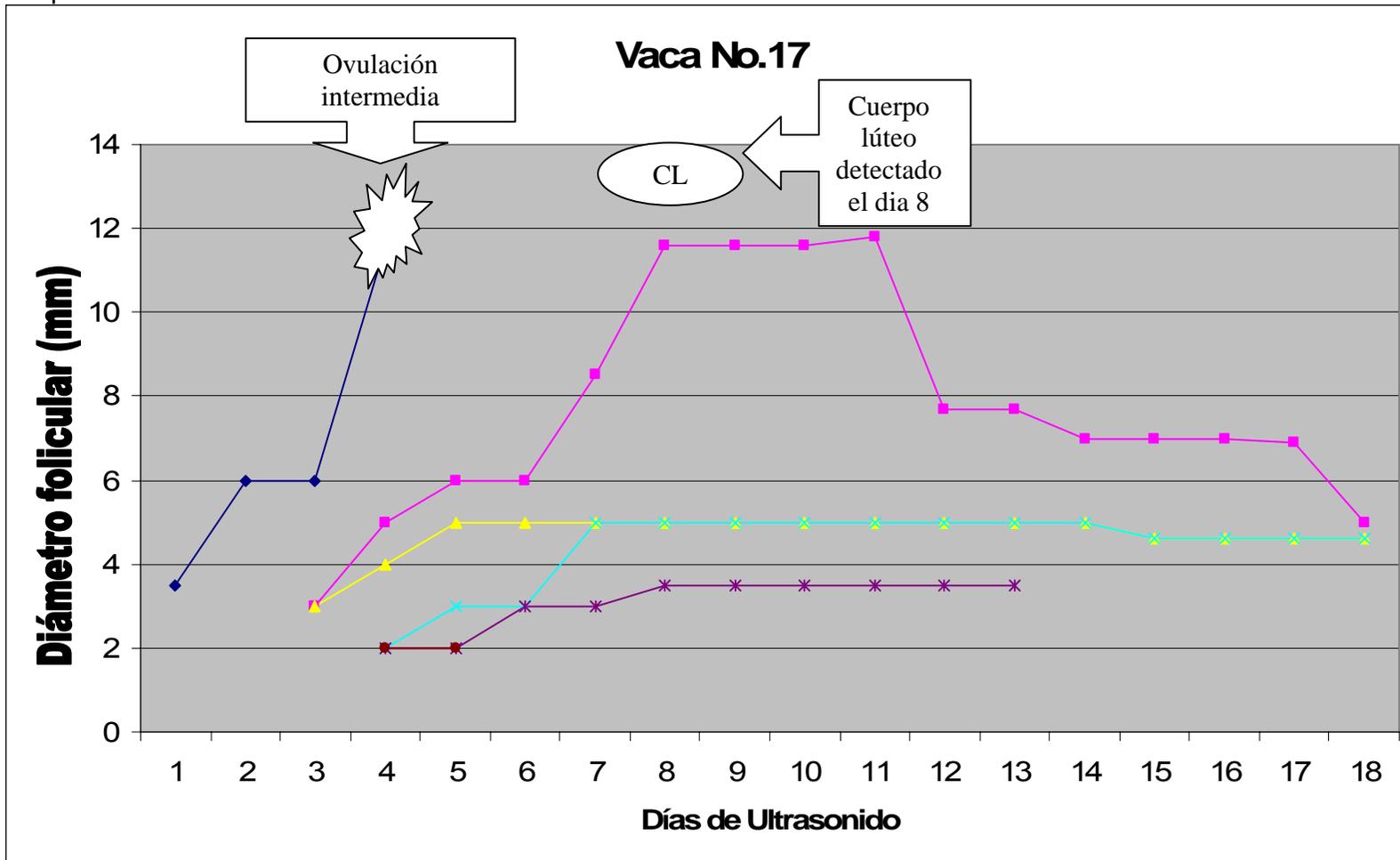
^{a,b,c} Diferente literal por fila indica diferencia estadística (P<0.05).

CUADRO 3. Tasa de ovulación de vacas *Bos indicus* anéstricas para los diferentes tratamientos.

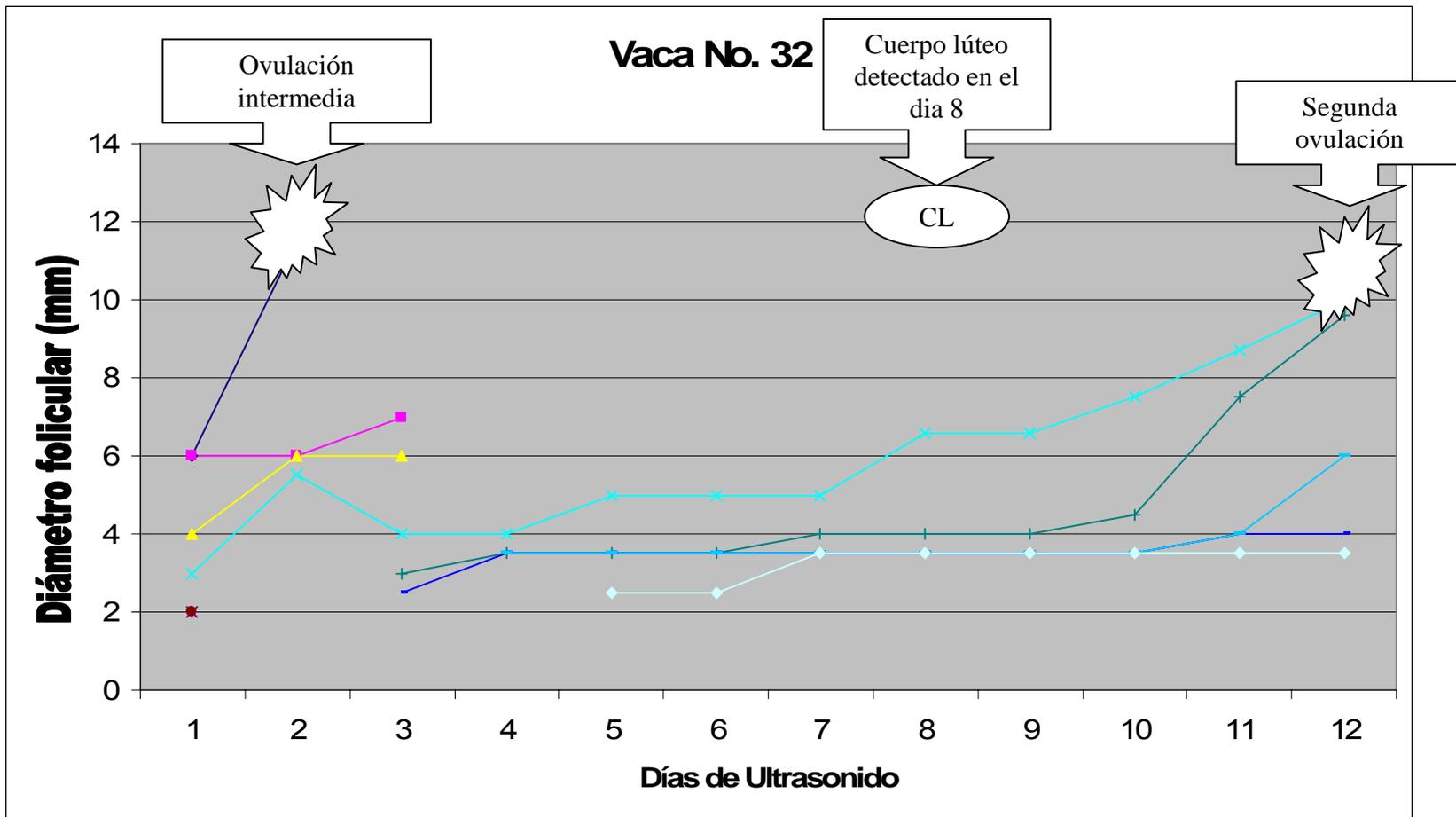
| GRUPOS | n | Número de vacas que ovularon | TASA DE OVULACIÓN |
|----------------|----|------------------------------|-------------------------------|
| GnRH+CIDR+GnRH | 15 | 14 | 93.3% ^a (14/15) |
| GnRH+CIDR | 14 | 12 | 85.7% ^b (12/14) |
| CIDR+GnRH | 15 | 14 | 93.3% ^a (14/15) |
| CIDR | 12 | 5 | 41.6% ^c (5/12) |
| TESTIGO | 12 | 3 | 25% ^d (3/12) |

^{a,b,c,d}Diferente literal por columna indica diferencia estadística (P<0.05).

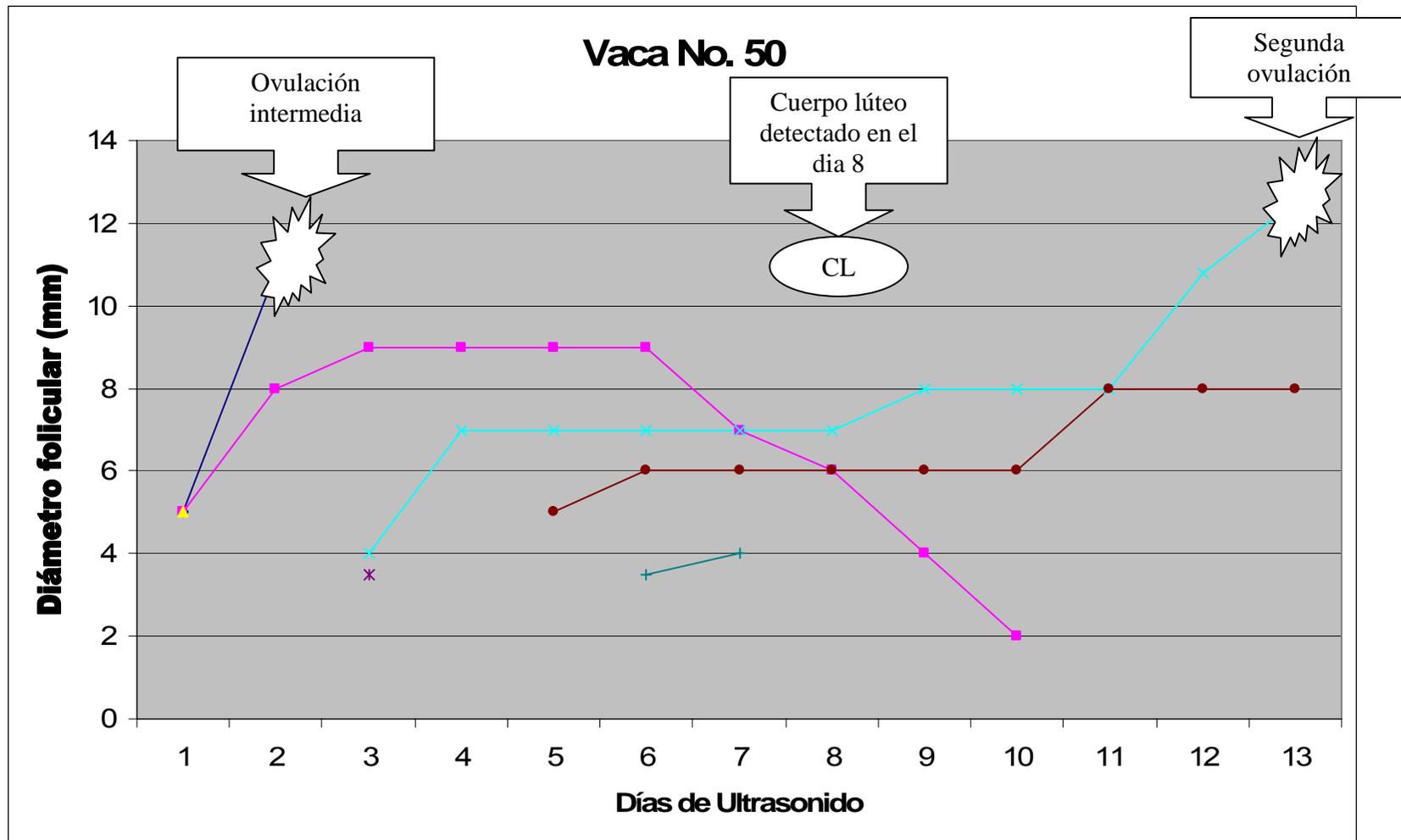
GRÁFICA 1. Desarrollo folicular de la vaca número 17 donde se presentó ovulación intermedia y formación de cuerpo lúteo.



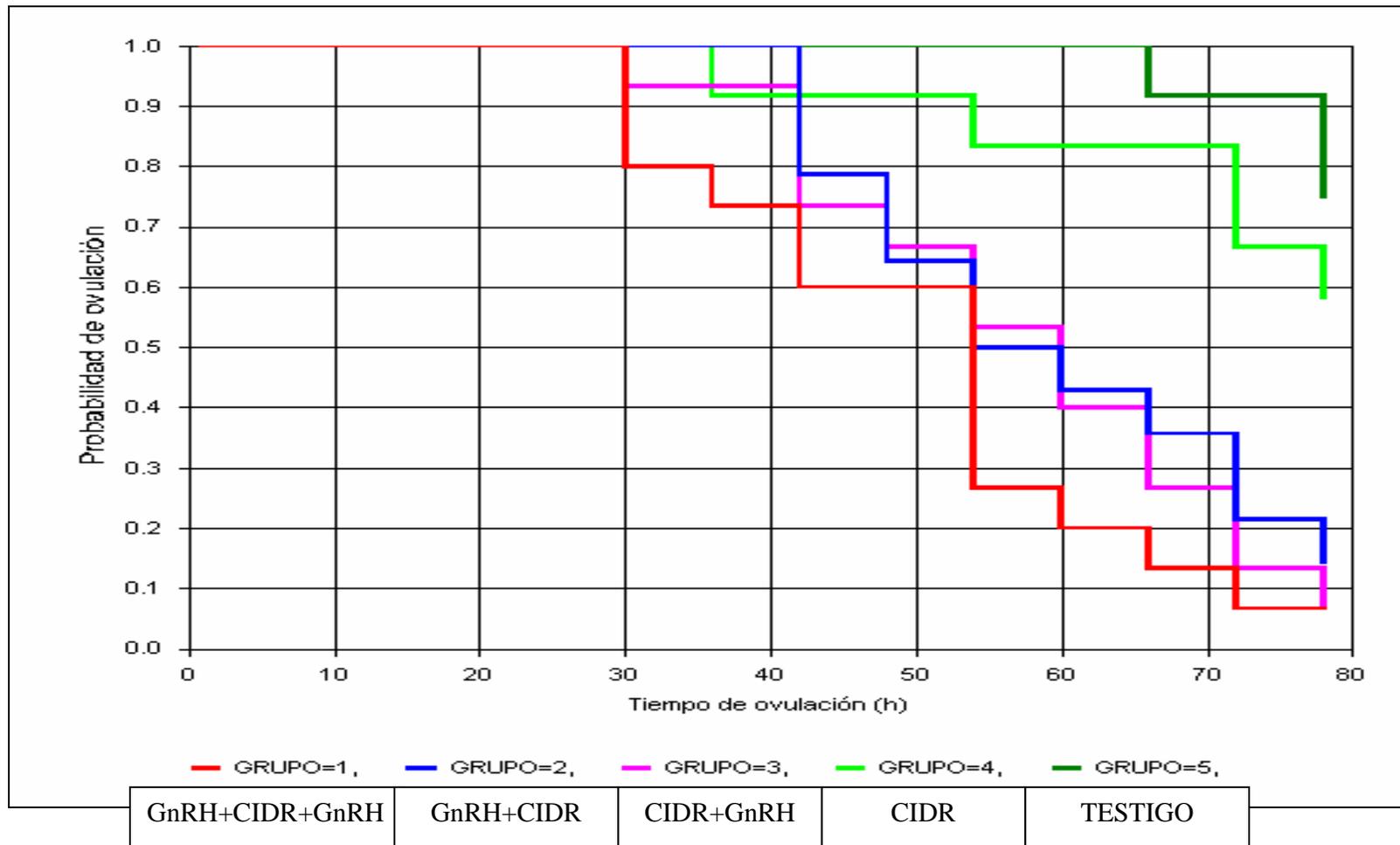
GRÁFICA 2. Desarrollo folicular de la vaca número 32 donde se presentó ovulación intermedia y formación de cuerpo lúteo.



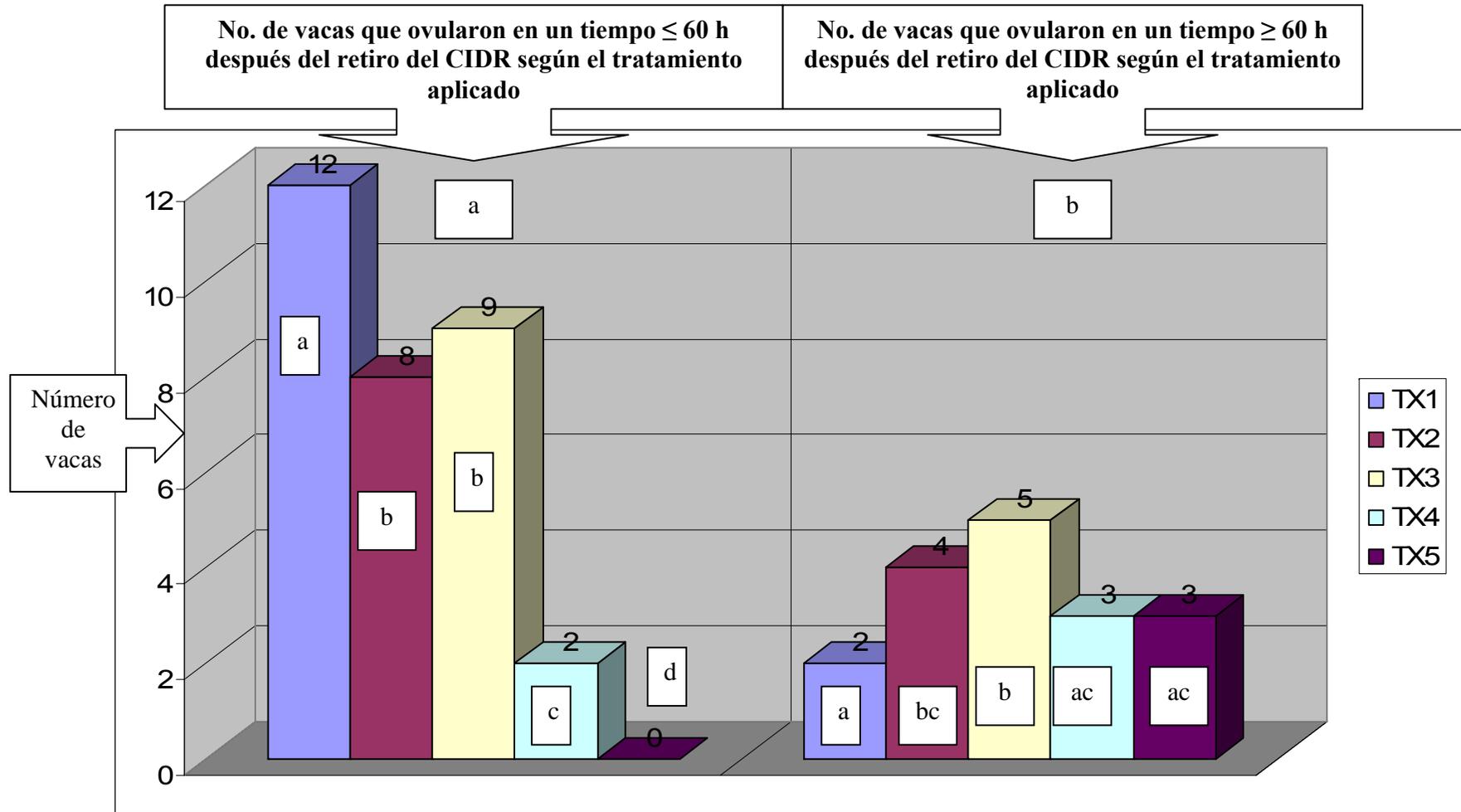
GRÁFICA 3. Desarrollo folicular de la vaca número 50 donde se presentó ovulación intermedia y formación de cuerpo lúteo.



GRÁFICA 4. Estimación de la ovulación en vacas *Bos indicus* anéstricas mediante el método Kaplan-Meier según los diferentes grupos experimentales.



GRÁFICA 5. Número de vacas *Bos indicus* anéstricas que ovularon en un tiempo ≤ 60 h y ≥ 60 h.



^{a,b}Diferente literal indica diferencia estadística entre grupos ($P < 0.05$).

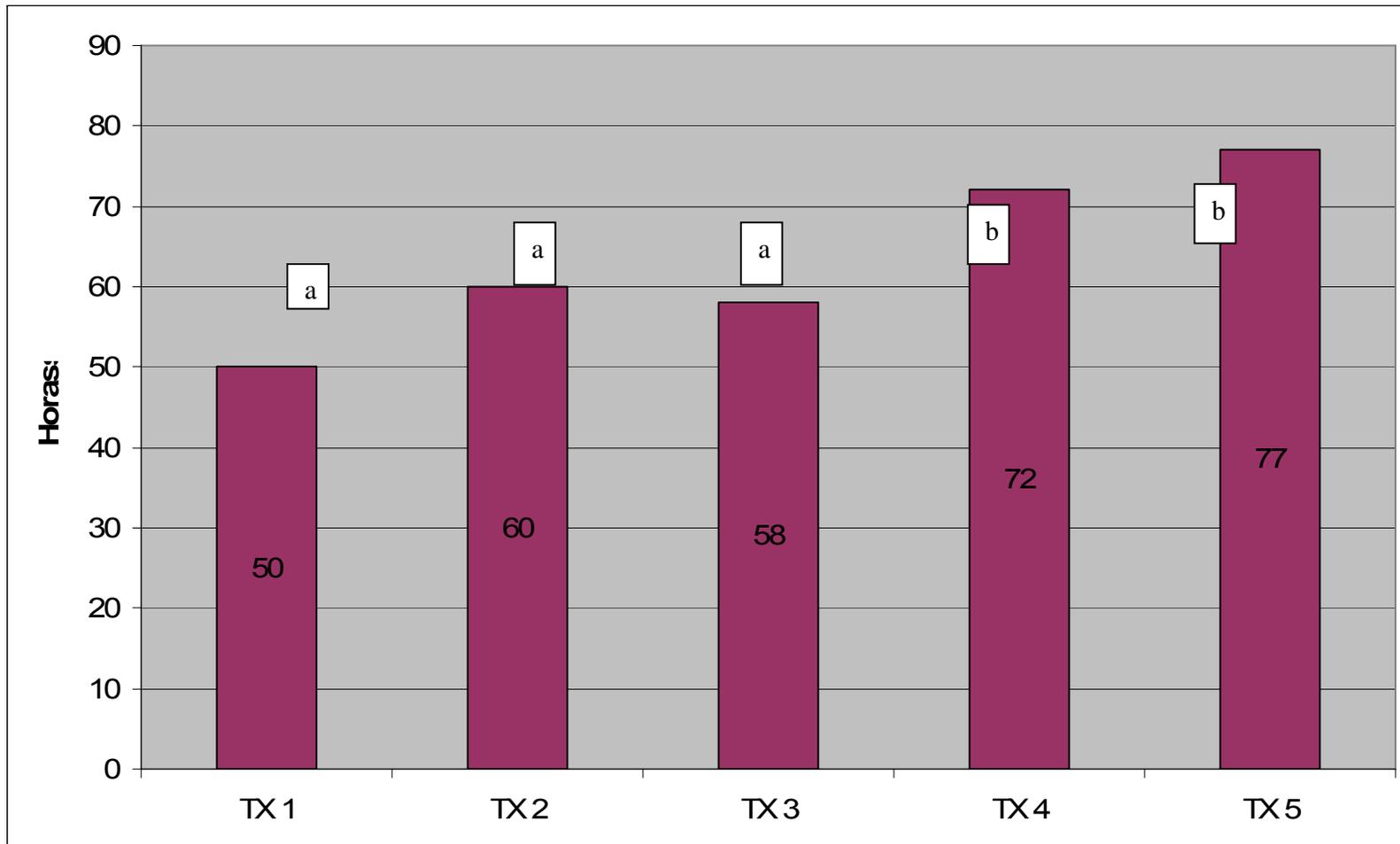
^{a,b,c,d}Diferente literal indica diferencia estadística dentro de grupos ($P < 0.05$).

CUADRO 4. Promedio de horas para la ovulación de vacas *Bos indicus* anéstricas después del retiro del CIDR según el tratamiento aplicado mediante la función de sobrevivencia del método Kaplan-Meier.

| GRUPOS | | | | | |
|-------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | GnRH+CIDR+GnRH n= 14/15 | GnRH+CIDR n= 12/14 | CIDR+GnRH n= 14/15 | CIDR n= 5/12 | TESTIGO n= 3/12 |
| Tiempo de ovulación (h) | Media ± E.E. 50 ± 4 ^a | Media ± E.E. 60 ± 4 ^a | Media ± E.E. 58 ± 4 ^a | Media ± E.E. 72 ± 4 ^b | Media ± E.E. 77 ± 1 ^b |

^{a,b}Diferente literal indica diferencia estadística (P<0.05).

GRÁFICA 6. Tiempo promedio de ovulación (h) después del retiro del CIDR según los tratamientos aplicados.



^{a,b}Diferente literal indica diferencia estadística ($P < 0.05$).

VII. DISCUSIÓN

Para realizar este estudio se seleccionaron 100 vacas *Bos indicus* anéstricas, las cuales fueron revisadas mediante palpación rectal y ultrasonografía para conocer su estatus reproductivo. Sin embargo, finalmente se incluyeron solamente 68 vacas en el estudio, resultando en una eliminación del 32% de las hembras, lo cual se consideró alto. A este respecto, en un estudio llevado a cabo por Landivar *et al.* (1985), para comparar la fertilidad a estro inducido con PGF2 α contra estro natural, tanto en monta directa como con IA, se palpó vía rectal a 616 vacas en 6 hatos diferentes de ganado cebuino en el trópico de México, incluyendo finalmente en el estudio sólo al 34% de las hembras. De igual forma, en un estudio realizado por Wild (1989), para analizar la distribución de la fertilidad en un empadre de 90 días comparando el comportamiento de hembras con estro inducido con prostaglandinas vs estro natural, se palparon vía rectal 461 vacas en 4 ranchos diferentes, incluyendo al final el 84% de las hembras palpadas. Esto sugiere que los resultados obtenidos en los diferentes experimentos están sujetos a una amplia variabilidad, y que aún en circunstancias similares, es poco probable que se obtengan resultados repetibles cada vez que se realice la selección de animales experimentales para un programa reproductivo (Montiel, 1996).

En el presente estudio, se pudo constatar que mediante la aplicación del GnRH en combinación con un CIDR se estimuló el desarrollo folicular y se sincronizó el momento de la ovulación en vacas *Bos indicus* anéstricas. Sin embargo, existió un efecto del tratamiento y de la condición corporal sobre la dinámica folicular.

Diversos protocolos hormonales que contemplan el uso de progesterona y progestágenos en combinación con GnRH y/o estrógenos, han sido usados principalmente para sincronizar el desarrollo folicular y la ovulación, resultando ser efectivos (Adams *et al.*, 1995; Colazo *et al.*, 1999; Martínez *et al.*, 2000, 2002). Palomares *et al.* (2005), realizaron un estudio donde utilizaron 61 vacas acíclicas a las cuales se les aplicó un PRID más una inyección de GnRH o estradiol al momento de su colocación, encontrando mayores tasas de ovulación en el grupo

que recibió el GnRH (57.1%), en comparación con el que recibió estradiol y con el grupo testigo (25%), sugiriéndose que debido a la aplicación de GnRH, se provocó la liberación de FSH y LH, lo cual causó un nuevo reclutamiento y crecimiento folicular. Así mismo, Kim *et al.* (2005) encontraron que la administración de GnRH al inicio del tratamiento con progesterona mediante la aplicación de un CIDR y una segunda inyección después del retiro del dispositivo causó el surgimiento y el desarrollo de una nueva oleada folicular entre 2 a 4 días después de la primera aplicación de GnRH, y la segunda inyección sincronizó el momento de la ovulación.

Por otro lado, en el presente experimento la buena CC de las hembras tuvo un efecto sobre el desarrollo folicular, lo cual también fue reportado por Lents *et al.* (2000), quienes observaron que en vacas con buena CC (5 a 6, en escala de 1 a 9), se encontraron folículos de mayor tamaño, en comparación con vacas con baja CC (15.3 ± 0.5 mm vs 13.4 ± 0.4 mm, respectivamente).

Esto puede atribuirse al hecho de que la CC de las hembras después del parto juega un papel importante en la influencia del desarrollo folicular, debido a las señales que se reciben en el hipotálamo o la hipófisis por medio de hormonas metabólicas relacionadas con la reproducción, como es el caso de la IGF-1, glucosa, insulina y leptina (Roche *et al.*, 2000; Wettemann *et al.*, 2003). Estas hormonas juegan un papel importante en la liberación y/o secreción e inhibición de hormonas como la GnRH y LH, las cuales afectan la función ovárica por estar relacionadas con el aumento o la disminución del desarrollo folicular (Gazal *et al.*, 1998; Yoshioka *et al.*, 2001; Wettemann *et al.*, 2003).

En un estudio realizado por Lamb *et al.* (2001), empleando vacas productoras de carne amamantando, se encontraron cambios en la dinámica folicular mediante el uso de GnRH en combinación con un CIDR (grupo Cosynch+P) y (grupo Cosynch), ya que se observó que las vacas con folículos >12 mm tuvieron mejores tasas de gestación, en comparación con vacas que tuvieron folículos <12 mm ($P < 0.01$), lo cual ayudó a que vacas en anestro

reiniciarán su ciclicidad. También se encontró efecto de la CC, ya que las vacas con $CC \geq 5$ (escala 1 a 9) tuvieron mejor respuesta al tratamiento.

En el presente estudio, las tasas de ovulación fueron aceptables, principalmente entre los tratamientos que incluyeron la aplicación de GnRH. A pesar de que las vacas estaban en anestro, los tratamientos GnRH+CIDR+GnRH y CIDR+GnRH indujeron mayores tasas de ovulación y tuvieron un efecto similar, a pesar de que en el tratamiento GnRH+CIDR+GnRH se aplicaron 2 inyecciones de GnRH (una al insertar el CIDR y la otra 24 h pos-retiro del mismo), y en el tratamiento CIDR+GnRH únicamente se aplicó GnRH a las 24 h del retiro del CIDR. La finalidad de la primera aplicación de GnRH fue sincronizar y estimular el desarrollo folicular, y la de la segunda aplicación fue sincronizar el momento de la ovulación, por lo que se esperaba que el mejor tratamiento fuera el GnRH+CIDR+GnRH. Sin embargo, la tasa de ovulación fue la misma para ambos tratamientos. El tratamiento GnRH+CIDR+GnRH mostró que se puede inducir ovulación intermedia con formación de CL. Esto puede resultar en lo siguiente: 1) si se forma un CL después de la aplicación de GnRH es probable que no se pueda inducir nuevamente otra ovulación en caso de volver a aplicar GnRH, aunque exista un folículo dominante como ocurrió en este experimento. A este respecto, Twagiramungu *et al.* (1994), indicaron que en algunas ocasiones las inyecciones de GnRH no logran inducir la ovulación, principalmente cuando el ovario tiene un CL que puede estar secretando grandes cantidades de progesterona. 2) A pesar de que el CL esté presente, si se aplica otra inyección de GnRH cuando existe un folículo dominante o con receptores para LH, se puede volver a presentar la ovulación. Esto ha sido reportado por Ryan *et al.* (1995), que encontraron que la administración de GnRH al momento de la inserción del CIDR provocó ovulación intermedia con formación de CL. Por otro lado, en un estudio realizado por Ando *et al.* (2005), se presentaron casos similares a los encontrados en el presente experimento, en donde una de las hembras que formó CL no ovuló después del retiro del CIDR, mientras que dos vacas que ovularon con el CIDR puesto y que también tuvieron formación de CL, volvieron a ovular después del retiro del CIDR.

Stevenson *et al.* (2006), encontraron que la doble aplicación de GnRH (una al momento de insertar el CIDR y la otra 48 h pos-retiro), causó ovulaciones intermedias en una proporción mayor en vacas en anestro que en aquéllas que se encontraban ciclando (15.2% vs 7.9%, respectivamente).

Lo anterior indica que la aplicación de GnRH en combinación con el uso del CIDR puede inducir la ovulación y/o luteinización del folículo dominante en vacas anéstricas, y puede sincronizar el desarrollo de una nueva oleada folicular (Schmitt *et al.*, 1996; Thompson *et al.*, 1999; Martínez *et al.*, 2000, 2002). La GnRH y sus análogos son capaces de inducir la liberación de FSH o LH, y en caso de existir un folículo dominante con receptores para LH (7-8 mm) en el momento de su aplicación, pueden causar la ovulación (Chenault *et al.*, 1990; Driancourt, 2001; Colazo *et al.*, 2004). Sin embargo, en el presente estudio, aunque no hubo un folículo dominante en el momento de la primera aplicación de GnRH, se provocó una ovulación, pero no ocurrió lo mismo en el grupo GnRH+CIDR, en donde al igual que el grupo GnRH+CIDR+GnRH se aplicó la inyección de GnRH al momento de la inserción del CIDR. Colazo *et al.* (2004), sugieren que puede haber otros factores que determinen si existe o no una ovulación en respuesta a un tratamiento con GnRH, de los cuales el principal es que el tratamiento puede tener una respuesta variable dependiendo de la etapa del desarrollo folicular en la que se encuentren los folículos en el ovario cuando la GnRH es aplicada (Geary *et al.*, 2000; Peters, 2005).

En el presente estudio, a pesar de que se obtuvo una tasa de ovulación del 90.7%, en los tratamientos que incluyeron GnRH ya sea en una o dos inyecciones (tratamientos GnRH+CIDR+GnRH, GnRH+CIDR, CIDR+GnRH), no hubo diferencia estadística en el tiempo promedio en que se presentó la ovulación después del retiro del CIDR. Sin embargo, el menor tiempo de presentación de la ovulación fue en el tratamiento GnRH+CIDR+GnRH, lo que podría sugerir que es un método aceptable para sincronizar la ovulación en vacas anéstricas *Bos indicus*, con un tiempo promedio de ovulación de 50 h después del retiro del CIDR. Dado que la aplicación de GnRH después del retiro del CIDR es capaz de hacer

ovular más rápidamente al folículo dominante, en caso de que no se pudieran hacer dos aplicaciones de GnRH, convendría administrarlo al término del tratamiento con progesterona natural, debido a que la inyección de GnRH en ese momento es la más importante para sincronizar e inducir la ovulación (Peters, 2005).

En un estudio realizado por Ando *et al.* (2005), en donde se aplicó GnRH en combinación con un CIDR (CIDR + GnRH) y el CIDR solo (CIDR), se observaron tiempos de ovulación después del retiro del CIDR de 72.0 ± 0.0 y de 93.0 ± 20.5 h, respectivamente ($P < 0.05$). Utt *et al.* (2003), también hicieron uso de GnRH en combinación con un CIDR, y encontraron que el tiempo promedio de ovulación después del retiro del CIDR fue de 81.8 h. Stegner *et al.* (2004), usando MGA más PGF2 α +GnRH+PGF2 α (MGA+Synch), reportaron un intervalo de 89 h para la presentación de la ovulación. Estas diferencias pueden ser debido al tratamiento empleado, así como a la etapa del ciclo en la que fue aplicado.

Por otro lado, la diferencia observada en el tiempo promedio en que se presentó la ovulación entre los tratamientos GnRH+CIDR+GnRH, GnRH+CIDR, y CIDR+GnRH, en comparación con los tratamientos CIDR y Testigo, puede atribuirse al hecho de que con la primera aplicación de GnRH se estimuló el desarrollo y reclutamiento folicular, y con la segunda se estimuló nuevamente para que el folículo que era dominante en ese momento ovulara más rápidamente (Twagiramungu *et al.*, 1992, 1994, 1995; Xu *et al.*, 2000; Macmillan *et al.*, 2003).

La ovulación en el posparto puede estar influenciada por factores tales como la alimentación, reflejado en la CC, y el amamantamiento. Estos factores pueden disminuir la liberación de GnRH, lo que su vez afecta la liberación pulsátil de LH, necesaria para que se presente la ovulación (Roche *et al.*, 1992; Yavas y Walton, 2000b). En el presente estudio, no se encontró efecto de la CC sobre la tasa de ovulación. Sin embargo, se ha observado que una alimentación adecuada en energía, reflejada en buenas reservas corporales, tiene efecto sobre las concentraciones sanguíneas de hormonas en el bovino (Wettemann *et al.*, 2003).

En un estudio realizado por de Medeiros *et al.* (2004), vacas productoras de carne multíparas, con baja CC (2.4 en escala de 1 a 5), y 60 a 75 días posparto, recibieron un CIDR junto con BE, eCG y GnRH, para reiniciar su ciclicidad. Se encontró efecto de la CC, pues las vacas con CC >2.5 tuvieron mejores tasas de gestación (47.6 a 66.6%) que las de CC <2.5 (30%).

En el presente estudio, los días posparto no tuvieron efecto sobre la tasa de ovulación. Al respecto, Wettemann *et al.* (2003) indican que la falta de oleadas foliculares después del parto no es un factor limitante para que se presente la ovulación. Así también, no se encontraron efectos por parte del número de partos sobre la tasa de ovulación en este estudio.

Finalmente, el único factor que afectó la tasa de ovulación fue el tratamiento. En otros experimentos en donde se ha utilizado GnRH con CIDR, se ha podido controlar el desarrollo folicular y la ovulación, obteniéndose buenos resultados (9.8 a 13.9 mm y 60 a 100%, respectivamente; Schmitt *et al.*, 1996; Kaim *et al.*, 2003; Ambrose *et al.*, 2005; Sakase *et al.*, 2005), en comparación con el uso de progesterona o con progestágeno sólo, que no proveen el estímulo suficiente para liberar el pico preovulatorio de LH necesario para la ovulación. Sin embargo, si el pico preovulatorio de LH es inducido con GnRH, algunas vacas anéstricas son capaces de ovular y formar un CL de vida media normal. Por lo tanto, es necesario proveer un estímulo después del uso de progesterona y/o un progestágeno para poder inducir un pico preovulatorio de LH y la ovulación (Day, 2004).

En el presente estudio, el uso de GnRH en combinación con un CIDR fue capaz de estimular el desarrollo folicular y la ovulación en vacas anéstricas, y aunque entre los tratamientos que incluyeron GnRH y CIDR el comportamiento fue similar, se obtuvieron mejores resultados en el desarrollo folicular y en la tasa general de ovulación comparado con aquéllos que no incluyeron su uso.

VIII. CONCLUSIONES

1. El uso de GnRH al inicio del tratamiento con progesterona natural y después del retiro de la misma, indujo el reinicio de la actividad folicular, sincronizó la ovulación y/o indujo ovulación intermedia en vacas *Bos indicus* anéstricas con 60 a 90 días posparto y buena CC.
2. La aplicación de 100 µg de GnRH al inicio del tratamiento con un CIDR estimuló y resincronizó el desarrollo folicular e indujo la ovulación en vacas *Bos indicus* anéstricas.
3. La aplicación de 100 µg de GnRH después del tratamiento con un CIDR estimuló y/o provocó la ovulación del folículo dominante en vacas *Bos indicus* anéstricas.
4. Se encontró efecto del tratamiento y de la CC sobre la dinámica folicular, así como efecto del tratamiento sobre la tasa de ovulación, en vacas *Bos indicus* anéstricas.

IX. LITERATURA CITADA

1. Abeygunawardena, H., and Dematawewa, C. M. B. (2004). Pre-pubertal and postpartum anestrus in tropical Zebu cattle. *Animal Reproduction Science* 82–83: 373–387.
2. Abeygunawardena, H., Abayawansa, W.D., Ratnayake, D., Jayatilake, M.W.A.P. (1994). Zebu cattle farming in Sri Lanka: production systems and reproductive characteristics. In: *Strengthening Research on Animal Reproduction and Disease Diagnosis in Asia Through the Application of Immunoassay Techniques*. IAEA–TECDOC 736, International Atomic Energy Agency, Vienna, pp. 37–51.
3. Adams, G.P., Matteri, R.L., Kastelic, J.P., Ko, J.C.H., Ginther, O.J. (1992). Association between surges follicle-stimulating hormone and emergence of follicular waves in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility* 94: 177-188.
4. Adams, G.,P and Pierson, R.A. (1995). Bovine model for study of ovarian follicular dynamics in humans. *Theriogenology* 43: 113–120.
5. Adams, G.P., Caccia, M., Martínez, M., Pierson, R.A., Mapletoft, R.J. (1995). Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Animal Reproduction Science* 39: 193–204.
6. Akers, R.M., Bauman, D.E., Capuco, A.V., Goodman, G.T., Tucker, H.A. (1981a). Prolactin regulation of milk secretion and periparturient cows. *Endocrinology* 109: 23-30.
7. Akers, R.M., Bauman, D.E., Goodman, G.T., Capuco, A.V., Tucker, H.A. (1981b). Prolactin regulation of cytological differentiation of mammary epithelial cells in periparturient cows. *Endocrinology* 109: 31-40.
8. Akers, R.M., and Lefcourt, A.M. (1982). Milking- and suckling-induced secretion of oxytocin and prolactin in parturient dairy cows. *Hormonal Behavior* 16: 87-93.

9. Alam, M.G.S., and Dobson, H. (1987). Pituitary responses to a challenge test of GnRH and oestradiol benzoate in postpartum and regularly cyclic dairy cows. *Animal Reproduction Science* 14: 1–9.
10. Ambrose, J.D., Kastelic, J.P., Rajamahendran, R., Aali, M., Dinn, N. (2005). Progesterone (CIDR)-based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiol cypionate for dairy heifers: Ovarian and endocrine responses and pregnancy rates. *Theriogenology* 64: 1457–1474.
11. Andrade, L.P., Rhind, S.M., Wright, I.A., McMillen, S.R., Goddard P.J., Bramley, T.A. (1996). Effects of bovine somatotrophin (bST) on ovarian function in post-partum beef cows. *Reproduction Fertility Development* 8: 951-960.
12. Ando, T., Kamimura, S., Hamana, K., Watanabe, G., Taya, K. (2005). GnRH Treatment and CIDR Insertion Influence Ovarian Follicular Dynamics in Japanese Black Cows. *Theriogenology* 67: 275-280.
13. Anta, E., Rivera, J.A., Galina, C., Porras, A., Zarco, L. (1989). Análisis de la información publicada sobre la eficiencia reproductiva de los bovinos. II. Parámetros reproductivos. *Veterinaria México* 20: 11–18.
14. Arreguín, J. A. A., Santos, R. E., Villa-Godoy, A., Román-Ponce, H. (1997). Dinámica folicular ovárica en vacas Cebú con diferente condición corporal y frecuencia de amamantamiento durante el período anovulatorio posparto. División de Educación Continua, UNAM, F.M.V.Z. (Eds.), VII Curso Internacional de Reproducción Bovina. Méx., D.F., pp. 210–240.
15. Arias, P., Rodriguez, M., Szwarcfarb, B., Sinay, I. R. and Moguilevsky, J. A. (1992). Effect of insulin on LHRH release by perfused hypothalamic fragments. *Neuroendocrinology* 56: 415–418.
16. Azzam, S.M., Weth, L.A., Kinder, J.E., Nielsen, M.K. (1991). Distribution of time to first postpartum estrus in beef cattle. *Journal of Animal Science* 69: 2563-2570.

17. Barros, C.M., Moreira, M.B.B., Figueiredo, R.A., Teixeira, A.B., Trinca, L.A. (2000). Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF2 α and Estradiol Benzoate. *Theriogenology* 53: 1121-1134.
18. Barros, C.M. (2000). Sincronización del estro y ovulación en cebuinos. Quinto congreso Argentino de reproducción animal. CABIA, Rosario, Argentina; CD.
19. Baruselli, P.S., de Sá Filho, M.F., Martins, C.M., Nasser, L.F., Nogueira, M. F.G., Barros, C.M., Bó, G.A. (2006). Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 65: 77–88.
20. Baruselli, P.S., Reis, E.L., Marques, M.O., Nasser, L.F., Bó, G.A. (2004). The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science* 82–83: 479–486.
21. Baruselli, P.S., Marques, M.O., Nasser, L.F., Reis, E.L., Bó, G.A. (2003). Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-B devices for timed artificial insemination. *Theriogenology* 59: 214 (abstract).
22. Baskin, D.G., Lattemann, D.F., Seeley, R.J., Woods, S.C., Porte, D. Jr. (1999). Insulin and leptin: dual adiposity signals to the brain for the regulation of food intake and body weight. *Brain Response* 848: 114–123.
23. Beal, W., Good, G., and Peterson, L. (1984). Estrus synchronization and pregnancy rates in cyclic and noncyclic beef cows and heifers treated with synchromate B or norgestomet and alfaprostol. *Theriogenology*. 22: 59-65.
24. Beam, S.W., and Butler, W.R. (1997). Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biology of Reproduction* 56: 133–142.
25. Beam, S.W., and Butler, W.R. (1999). Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 54 (Suppl.): 411–424.

26. Bell, D.J., Spitzer, J.C., Burns, G.L. (1998). Comparative effects of early weaning or once-daily suckling on occurrence of postpartum estrus in primiparous beef cows. *Theriogenology* 50: 707-715.
27. Berardinelli, J.G., Joshi, P.S, Tauck, S.A. (2005) Postpartum resumption of ovarian cycling activity in first-calf suckled beef cows exposed to familiar or unfamiliar bulls. *Animal Reproduction Science* 90: 201–209.
28. Bishop, D.K., Wettemann, R.P., Spicer, L.J. (1994). Body energy reserves influence the onset of luteal activity after early weaning of beef cows. *Journal of Animal Science* 72: 2703–2708.
29. Bó, G.A., Adams, G.P., Nasser, L.F., Pierson, R.A., Mapletoft, R.J. (1993a). Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. *Theriogenology* 40: 225-239.
30. Bó, G.A., Adams, G.P., Caccia, M., Martínez, M., Pierson, R.A., Mapletoft, R.J. (1995). Ovarian follicular wave emergence after estradiol and progesterone treatment in cattle. *Animal Reproduction Science* 39: 193-204.
31. Bó, G.A., Caccia, M., Martínez, M., Mapletoft, R.J. (1996). Follicular wave emergence after treatment with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal devices in beef cattle. In: *Proceedings of the 13th International Congress on Animal Reproduction*. Sydney, Australia, 2, Section 7 (abstract 22).
32. Bó, G.A., and Baruselli, P.S. (2002). Programa de inseminación artificial a tiempo fijo en el ganado bovino en regiones subtropicales y tropicales. *Memorias XI congreso venezolano de producción e industria animal*. Valera 22 al 26 de octubre. ULA-Trujillo. Pag. 1-15.
33. Bó, G.A. (2002). Dinámica folicular y tratamientos hormonales para sincronizar la ovulación en el ganado bovino. *Memorias XI congreso venezolano de producción e industria animal*. Valera 22 al 26 de octubre. ULA-Trujillo. Pag. 1-17.
34. Bó, G.A., Tegli, J.C., Cutaia, L., Moreno, D., Alisio, L., Tribulo, R. (2000). Fixed-time artificial insemination in bradford cows treated with progesterone

- releasing devices and eCG or estradiol benzoate. *Arq. Fac.Vet. UFRGS, Porto Alegre, Brazil*, 28 (Suppl.): 209 (abstract).
35. Bó, G.A., Baruselli, P.S., Moreno, D., Cutaia, L., Caccia, M., Tribulo, R., Tribulo, H., Mapletoft, R.J. (2002a). The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 57: 53–72.
 36. Bó, G.A., Cutaia, L., Tribulo, R. (2002b). Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Primera Parte. *Bos Taurus* 14: 10–21.
 37. Bó, G.A., Cutaia, L., Tribulo, R. (2002c). Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Segunda Parte. *Taurus* 15: 17–32.
 38. Bó, G.A., Baruselli P.S., Martínez M.F. (2003). Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science* 78: 307-326.
 39. Bó, G.A., Baruselli, P.S., Chesta, P.M., Martins, C.M. (2006). The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. *Theriogenology* 65: 89–101.
 40. Boland, M.P., Murphy, M.G., Roche, F.S. (1990). The use of ultrasound to monitor ovarian function in farm animals. *Agriculture and Biotechnology News Information* 2: 841–844.
 41. Borman, J.M., Radcliff, R.P., McCormack, B.L., Kojima, F.N., Patterson, D.J., Macmillan, K.L., Lucy, M.C. (2003). Synchronisation of oestrus in dairy cows using prostaglandin F_{2α}, gonadotrophin-releasing hormone, and oestradiol cypionate. *Animal Reproduction Science* 76: 163–176.
 42. Bossis, I., Wettemann, R.P., Welty, S.D., Vizcarra, J.A., Spicer, L.J., Diskin, M.G. (1999). Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation. *Journal of Animal Science* 77: 1536–1546.

43. Brannian, J.D., and Hansen, K.A. (2002). Leptin and ovarian folliculogenesis: implications for ovulation induction and ART outcomes. *Sem Reproduction Medicine* 20-21: 103-112.
44. Breuel, K.F., Lewis, P.E., Inskip, E.K., Butcher, R.L. (1993). Endocrine profiles and follicular development in early-weaned postpartum beef cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 97: 205–212.
45. Browning, R., Jr, Leite-Browning, M.L., Lewis, A.W., Randel, R.D. (1996). Sire breed of Calf influences peripartum endocrine profiles and postpartum anestrus in Brahman cows. *Domestic Animals Endocrinology* 13: 511-517.
46. Browning, R., Jr, Robert, B.S., Lewis, A.W., Neuendorff, D.A., Rande R.D. (1994). Effects Of postpartum nutrition and once-daily suckling on reproductive efficiency and preweaning calf performance in fall-calving Brahman (*Bos indicus*) cows. *Journal of Animal Science* 72: 984-989.
47. Burke, J.M., De la Sota, R.L., Risco, C.A., Staples, C.R., Schmitt, E.J.P., Thatcher, W.W. (1996). Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 79: 1385–1393.
48. Burke, C.R., Day, M.L., Bunt, C.R., Macmillan, K.L. (2000). Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. *Journal of Animal Science* 78: 145–151.
49. Burns, P.D., and Spitzer, L.C. (1992). Influence of biostimulation on reproduction in postpartum beef cows. *Journal Animal Science* 70: 358-362.
50. Butler, W.R. (2000). Nutritional interactions whit reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* 60-61: 449-457.
51. Campbell, B.K., Scaramuzzi, R.J., Webb, R. (1995). Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *Journal of Reproduction and Fertility* 49 (Suppl.): 335-350.
52. Caprio, M., Fabbri, E.F., Isidori, A.M., Aversa, A., Fabbri A. (2001). Leptin in reproduction. *Trends Endocrinology Metabolism* 12: 65-72.

53. Castillo, J.H., Ruiz-Cortés, Z.T., Olivera-Ángel, M., Jiménez, C. (1997). Reactivación ovárica postparto en vacas cebú Brahman con relación al peso y condición corporal. *Revista Colombiana Ciencia Pecuaria* 10: 12-18.
54. Cavalieri, J., Rubio, I., Kinder, J.E., Entwistle, K.W., Fitzpatrick, L.A. (1997). Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. *Theriogenology* 47: 801–814.
55. Cavalieri, J., Coleman, C., Rodriguez, H., Macmillan, K.L., Fitzpatrick, L.A. (2002). The effect of timing of administration of oestradiol benzoate on characteristics of oestrus, timing of ovulation and fertility in *Bos indicus* heifers synchronised with a progesterone releasing intravaginal insert. *Australian Veterinary Journal* 80: 217–223.
56. Chenault, J.R., Kratzer, D.D., Rezkowsky, R.A., Goodwin, M.C. (1990). LH and FSH response of holstein heifers to fertirelin acetate, gonadorelin and buserelin. *Theriogenology* 34: 81-98.
57. Chenoweth, P.J. (1994). Aspects of reproduction in female *Bos indicus* cattle: a review. *Australian Veterinary Journal* 71: 422–426.
58. Chao, C.C., Moss, G.E., Malven, P.V. (1986). Direct opioid regulation of pituitary release of bovine luteinizing hormone. *Life Science* 39: 527-534.
59. Colazo, M.G., Bó G.A., Illuminanti, H., Meglia, G., Schmidt, E.E., Bartolomé, J. (1999). Fixed-time artificial insemination in beef cattle using CIDR devices, progesterone and estradiol benzoate. *Theriogenology* 51: 404 (Abstract).
60. Colazo, M.G., Kastelic, J.P., Martínez, M.F., Whittaker, P.R., Wilde, R., Ambrose, J.D., Corbett, R., Mapletoft, R.J. (2004). Fertility following fixed-time AI in CIDR-treated beef heifers given GnRH or estradiol cypionate and fed diets supplemented with flax seed or sunflower seed. *Theriogenology* 61: 1115–1124.
61. Convey, E.M., Walters, D.L., Short, R.E., Padmanabhan, V., Leung, K. (1982). Pituitary function in suckled and weaned cows postpartum. In: Karg H, Schallenberger E. (eds), *Factors Influencing Fertility in the Postpartum*

Cow, *Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science*, vol. 20. The Hague: Martinus Nijhoff; 229-233.

62. Cooper, D.A., Carver, D.A., Villeneuve, P., Silvia, W.J. and Inskeep, E.K. (1991). Effects of progestogen treatment on concentrations of prostaglandins and oxytocin in plasma from the posterior vena cava of postpartum beef cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 91: 411–421.
63. Crowe, M.A., Padmanabhan, V., Mihm, M., Beitins, I.Z. and Roche, J.F. (1998). Resumption of follicular waves in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite major changes in steroid and luteinizing hormone concentrations. *Biology of Reproduction* 58: 1445–1450.
64. Cupp, A.S., Roberson, M.S., Stumpf, T.T., Wolfe, M.W., Werth, L.A., Kojima, N., Kittok, R.J., Kinder, J.E. (1993). Yearling bull shorten the duration of postpartum anestrus in beef cows to the same extent as do mature bulls. *Journal of Animal Science* 71: 306-309.
65. Custer, E.E., Berardinelli, J.G., Short, R.E., Wehrman, M., Adir, R. (1990). Postpartum interval to estrus and patterns of LH and progesterone in first-calf suckled beef cows exposed to mature bulls. *Journal of Animal Science* 68: 1370-1377.
66. Cutaia, L., Moreno, D., Villata, M.L., Bó, G.A. (2001a). Synchrony of ovulation in beef cows treated with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate administered at device removal or 24 h later. *Theriogenology* 55: 244 (abstract).
67. Cutaia, L., Tríbulo, R., Moreno, D., Bó, G.A. (2003). Pregnancy rates in lactating beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and equine chorionic gonadotropin (eCG). *Theriogenology* 59: 216 (abstract).
68. Darwash, A.O., Lamming, G.E., and Woolliams, J.A. (1997). The phenotypic association between the interval to post-partum ovulation and traditional measures of fertility in dairy cattle. *Animal Science* 65: 9–16.

69. Day, M.L. (2004). Hormonal induction of estrous cycles in anestrous *Bos taurus* beef cows. *Animal Reproduction Science* 82–83: 487–494.
70. Day, M.L., Kurz, S.G., Nephew, K.P., Wright, M.D., Hu, Y., Ford, S.P., Pope W.F. (1993). Influence of catecholestradiol on short-lived corpora lutea in beef cows. *Domestic Animal Endocrinology* 10: 95-102.
71. de Medeiros, G., Heitor, R., Wollman, F., Pereira, Jairo., Coelho, J. F., Manta, J. F., Abreu, S., Marafon, P., Dias, P. B. (2004). Hormonal induction of ovulation and artificial insemination in suckled beef cows under nutritional stress. *Theriogenology* 62: 847–853.
72. D’Occhio, M.J., Neish, A., Broadhurst, L. (1990). Differences in gonadotrophin secretion postpartum between Zebu and European breed cattle. *Animal Reproduction Science* 22: 311–317.
73. DeRouen, S.M., Franke, D.E., Morrison, D.J., Wiatt, W.E., Coombs, D.F., White, T.W., Humes, P.E., Greene, B.B. (1994). Prepartum body condition and rate influences on reproductive performance of first-calf beef cows. *Journal of Animal Science* 72: 1119–1125.
74. Díaz, G.S., Galina, C.S., Basurto, C.H., Ochoa, G.P. (2002). Efecto de la progesterona natural con o sin la adición de benzoato de estradiol sobre la presentación de celo, ovulación y gestación en animales tipo *Bos indicus* en el trópico mexicano. *Archivos de Medicina Veterinaria* 34: 235-243.
75. Dimmick, M.A., Jiménez, T., Spitzer, J.C. (1991). Ovarian endocrine activity and development of ovarian follicles during the postpartum interval in beef cows. *Animal Reproduction Science* 24: 173-183.
76. Driancourt, M.A. (1991). Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology* 35: 55-79.
77. Driancourt, M.A. (2001). Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology* 55: 1211-1239.

78. Dunlap, S.E., Kiser, T.E., Rampacek, G.B., Kraeling, R.R., Thompson F.N. (1981). Effect of suckling on cortisol, progesterone and luteinizing hormone in postpartum beef cows. *Theriogenology* 16: 185-193.
79. Echterkamp, S.E., and Gregory, K.E. (1999). Effects of twinning on postpartum reproductive performance in cattle selected for twin births. *Journal of Animal Science* 77: 48-60.
80. Entwistle, K.W. (1983). Factors influencing reproduction in beef cattle in Australia. *Aust. Meat Res. Committ. Rev.* 43: 30.
81. Estienne M.J., Harper A.F., Kozink D.M., Knight J.W. (2003). Serum and milk concentrations of leptin in gilts fed a high- or low energy diet during gestation. *Animal of Reproduction Science* 75: 95-105.
82. Fabre-Nys, C., Poindron, P., Signoret, J.P. (1993.). Reproductive behavior. In: King GJ (ed), *Reproduction in Domesticated Animals*. Amsterdam: Elsevier.
83. Fajersson, P., Stanko, R.L., Williams, G.L. (1999). Distribution and repeatability of anterior pituitary responses to GnRH and relationship of response classification to the postpartum anovulatory interval of beef cows. *Journal of Animal Science* 77: 3043-3049.
84. Fernández, P., Teixeira, A.B., Crocci, A.J., Barros, C.M. (2001). Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF₂ α and estradiol benzoate (EB). *Theriogenology* 55: 1521-1532.
85. Fortune, J.E., Sirois, J., Quirk, S.M. (1988). The growth and differentiation of ovarian follicles during the bovine estrous cycle. *Theriogenology* 29: 95-109.
86. Fortune, J.E. (1994). Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biology of Reproduction* 50: 225–232.
87. Galina, C.S., and Arthur, G.H. (1989a). Review of cattle reproduction in the tropics. 2. Parturition and calving intervals. *Animal Breeding* 57: 679–686 (Abstract).

88. Galina, C.S., and Arthur, G.H. (1989b). Review of cattle reproduction in the tropics. 3. Puerperium. *Animal Breeding* 57: 889–910 (Abstract).
89. García, E. (1981). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 3a Ed. Instituto de Geografía, UNAM, México, D.F. pp. 143-201.
90. Garcia-Winder, M., Imakawa, K., Day, M.L., Zalesky, D.D., Kittok, R.J., Kinder, J.E. (1984). Effect of suckling and ovariectomy on the control of luteinizing hormone secretion during the postpartum period in beef cows. *Biology of Reproduction* 31: 771-778.
91. Gazal, O.S., Leshin, L.S., Stank, R.L., Thomas, M.G., Keisler, D.H., Anderson, L.L., Williams G.L. (1998). Gonadotropin-releasing hormone secretion into third-ventricle cerebrospinal fluid of cattle: correspondence with the tonic and surge release of luteinizing hormone and its tonic inhibition by suckling and neuropeptide Y. *Biology of Reproduction* 59: 676-683.
92. Geary, T.W., E.R. Downing, J.E. Bruemmer, and J.C. Whittier. (2000). Ovarian and estrous response of suckled beef cows to Select Synch estrous synchronization protocol. *Prof. Animal Science* 16: 1–5.
93. Geary, T.W., Whittier, J.C., Downing, E.R., LeFever, D.G., Silcox, R.W., Holland, M.D., Nett, T.M., Niswender, G.D. (1998a). Pregnancy rates of postpartum beef cows that were synchronized using Syncro-Mate B or the Ovsynch protocol. *Journal of Animal Science* 76: 1523–1527.
94. Geary, T.W., Whittier, J.C., LeFever, D.G. (1998b). Effect of calf removal on pregnancy rates of cows synchronized with the Ovsynch or CO-Synch protocol. *Journal of Animal Science* 81 (Suppl. 1): 278.
95. Ginther, O.J., Knopf, L., and Kastelic, J.P. (1989). Ovarian follicular dynamics in heifers during early pregnancy. *Biology of Reproduction* 41: 247–254.
96. Ginther, O.J., Kastelic, J.P., and Knopf, L. (1989a). Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Animal Reproduction Science* 20: 187–200.

97. Ginther, O.J., Knopf, L., and Kastelic, J.P. (1989b). Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *Journal of Reproduction and Fertility* 87: 223–230.
98. Ginther, O.J., Wiltbank, M.C., Fricke, P.M., Gibbons, J.R., Kot, K. (1996). Selection of the dominant follicle in cattle. Minireview. *Biology of Reproduction* 55: 1187-1194.
99. Ginther, O.J., Kot, K., Kulick, L.J., Martin, S. and Wiltbank, M.C. (1996). Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility* 108: 271–279.
100. Griffith, M.K., and Williams, G.L. (1996). Roles of maternal vision and olfaction in suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion, expression of maternal selectivity, and lactational performance of beef cows. *Biology of Reproduction* 54: 761-768.
101. Grimard, B., Humblot P., Ponter A.A., Mialot J.P., Sauvant D., Thibier M. (1995). Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and oestradiol secretion and follicular development in suckled beef cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 104: 173-179.
102. Guedon, L., Saumande, J., Desbals, B. (1999). Relationships between calf birth weight, prepartum concentrations of plasma energy metabolites and resumption of ovulation postpartum in Limousine suckled beef cows. *Theriogenology* 52: 779-789.
103. Gwazdauskas, F.C., Thatcher, W.W., Wilcox, C.J. (1973). Physiological, environmental, and hormonal factors at insemination which may affect conception. *Journal of Dairy Science* 56: 873-877.
104. Hadley, ME. (1984). *Endocrinology*. New Jersey: Prentice-Hall.
105. Hansel, W., and Convey, E.M. (1983). Physiology of the estrous cycle. *Journal of Animal Science* 57 (Suppl. 2): 404-424.
106. Hansen, P.J. (1985). Seasonal modulation of puberty and postpartum anoestrus in cattle: a review. *Livestock Production Science* 12: 309–327.

107. Haresign, W. (1984). Underfeeding and reproduction: physiological mechanisms. INRA (Ed.), *Reproduction des ruminants en zone tropicale*. Reunion Internationale, Ponit-a-Pitre, Guadeloupe Paris, France, pp. 339–345.
108. Harrison, L.M., and Randel, R.D. (1986). Influence of insulin and energy intake on ovulation rate, luteinizing hormone and progesterone in beef heifers. *Journal of Animal Science* 63: 1228–1235.
109. Hashizume, T., Kumahara, A., Fujino, M., Okada, K. (2002). Insulin-like growth factor I enhances gonadotropin-releasing hormone-stimulated luteinizing hormone release from bovine anterior pituitary cells. *Animal Reproduction Science* 70: 13-21.
110. Henao, G., Olivera-Ángel, M., Maldonado-Estrada, J.G. (2000). Follicular dynamics during postpartum anestrous and the first estrous cycle in suckled or non-suckled Brahman (*Bos indicus*) cows. *Animal Reproduction Science* 63: 127-136.
111. Henao, G., Trujillo, L.E., Vásquez, J.F. (2000). Cambios en la dinámica folicular en vacas cebú anéstricas sometidas a suspensión temporal de la lactancia. *Revista Colombiana Ciencia Pecuaria* 13: 121-129.
112. Hillebrand, J.J., Wied, D., Adan, R.A. (2002). Neuropeptides, food intake and body weight regulation: a hypothalamic focus. *Peptides* 23: 2283–2306.
113. Hoffman, D.P., Stevenson, J.S., Minton, J.E. (1996). Restricting calf presence without suckling compared with weaning prolongs postpartum anovulation in beef cattle. *Journal of Animal Science* 74: 190-198.
114. Holness, D.H. (1984). The effects of pre- and post-partum levels of nutrition on fertility in cattle. INRA (Ed.), *Reproduction des ruminants en zone tropicale*. Reunion Internationale, Ponit-a-Pitre, Guadeloupe Paris, France, pp. 379–388.
115. Houghton, P.L., Lemenager, R.P., Horstman, L.A., Hendrix, K.S., Moss, G.E. (1990). Effects of body composition, pre- and postpartum energy level

- and early weaning on reproductive performance of beef cows and preweaning calf gain. *Journal of Animal Science* 68: 1438-1446.
116. Humblot, P., Grimard, B., Mialot, J.P. (1996). Sources of variation of postpartum cyclicity, ovulation and pregnancy rates in suckled beef cows treated with progestagen and PMSG. In: *Proceedings of the Society of Theriogenology Meeting*. Kansas City, USA, pp. 36–45.
117. Johnson, S.K., Grum, D.E., Day, M.L. (2000). Addition of GnRH or an intravaginal progesterone insert to a GnRH-PGF synchronization system to enhance response to timed breeding in postpartum beef cows. *Journal of Animal Science* 78 (Suppl. 1): 218 (Abstract).
118. Jolly, P.D. (1992). Physiological and nutritional aspects of postpartum acyclicity in *Bos indicus* cows. Ph.D. Thesis, James Cook University of North Queensland, Townsville.
119. Jolly, P.D., McDougall, S., Fitzpatrick, L.A., Macmillan, K.L., Entwistle, K.W. (1995). Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 49 (Suppl.): 477–492.
120. Kaim, M., Bloch, A., Wolfenson, D., Braw-Tal, R., Rosenberg, M., Voet, H., and Folman, Y. (2003). Effects of GnRH Administered to Cows at the Onset of Estrus on Timing of Ovulation, Endocrine Responses, and Conception. *Journal of Dairy Science* 86:2012–2021.
121. Kerdelhue, B., Parnet, P., Lenoir, V., Schirar, A., Gaudoux, F., Levasseur M.C., Palkovits M., Blacker C., Scholler R. (1988). Interactions between 17 β estradiol and the hypothalamo-pituitary R-endorphin system in the regulation of the cyclic LH secretion. *Journal of Steroid Biochemistry* 30: 161-168.
122. Kim, U.H., Suh, G.H., Nam, H.W., Kang, H.G., Kim, I.H. (2005). Follicular wave emergence, luteal function and synchrony of ovulation following GnRH or estradiol benzoate in a CIDR-treated, lactating Holstein cows. *Theriogenology* 63: 260–268.

123. Kinder, J.E., Whyte, T.R., Creed, A., Aspden, W.J. D'Occhio, M.J. (1997). Seasonal fluctuations in plasma concentrations of luteinizing hormone and progesterone in Brahman (*Bos indicus*) and Hereford-Shorthorn (*Bos Taurus*) cows grazing pastures at two stocking rates in subtropical environment. *Animal Reproduction Science* 49: 101-111.
124. Knight, T.W., Peterson, A.J., Payne, E. (1978). The ovarian and hormonal response of the ewe to stimulation by the ram early in the breeding season. *Theriogenology* 10: 343-353.
125. Knopf, L., Kastelic, J.P., Schallenberger, E. and Ginther, O.J. (1989). Ovarian follicular dynamics in heifers: test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. *Domestic Animal Endocrinology* 6: 111–119.
126. Landivar, C., Galina, C.S., Duchateau, A., Navarro-Fierro, R. (1985). Fertility trial in zebu cattle after a natural or controlled estrus with prostaglandin F2 alpha, comparing natural mating with artificial insemination. *Theriogenology* 23: 421-429.
127. Lalman, D.L., Williams, J.E., Hess, B.W., Thomas, M.G., Keisler, D.H. (2000). Effect of dietary energy on milk production and metabolic hormones in thin, primiparous beef heifers. *Journal of Animal Science* 78: 530-538.
128. Lamb, G.C., Lynch, J.M., Grieger, D.M., Minton, J.E., Stevenson, J.S. (1997). Ad libitum suckling by an unrelated calf in the presence or absence of a cow's own calf prolongs postpartum anovulation. *Journal of Animal Science* 75: 2762-2769.
129. Lamb, G.C., Miller, B.L., Lynch, J.M., Thompson, K.E., Heldt, J.S., Loest, C.A., Grieger, D.M., Stevenson J.S. (1999). Twice daily suckling but not milking with calf presence prolongs postpartum anovulation. *Journal of Animal Science* 77: 2207-2218.
130. Lamb, G.C., Miller, B.L., Lynch, J.M., Grieger, D.M., Stevenson, J.S., Lucy, M.C. (1999). Suckling reinitiated milk secretion in beef cows after an early

- postpartum hiatus of milking or suckling. *Journal of Dairy Science* 82:1489-1496.
131. Lamb, G.C., Stevenson, J.S., Kesler, D.J., Garverick, H.A., Brown, D.R., Salfen B.E. (2001). Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F2 α for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *Journal of Animal Science* 79: 2253–9.
 132. Lamming, G.E., Wathes, D.C., Peters, A.R. (1981). Endocrine patterns of the post-partum cow. *Journal of Reproduction and Fertility* 30 (Suppl.): 155-170.
 133. Larson, J.E., Lamb, G.C., Stevenson, J.S., Johnson, S.K., Day, M.L., Geary, T.W., Kesler, D.J., DeJarnette, J.M., Schrick, F.N., DiCostanzo, A., Arseneau, J.D. (2006). Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and timed artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F2 α , and progesterone. *Journal of Animal Science* 84:332–342.
 134. Leshin, L.S., Rund, L.A., Kraeling, R.R., Kiser, T.E. (1991). The bovine preoptic area and median eminence: sites of opioid inhibition of luteinizing hormone-releasing hormone secretion. *Journal of Animal Science* 69: 3733-3746.
 135. Leibowitz, S.F., and Wortley, K.E. (2004). Hypothalamic control of energy balance: different peptides, different functions. *Peptides* 25: 473-504.
 136. Lents, C.A., White, F.J., Lalman, D.L. and Wettemann, R.P. (2000). The effects of body condition and protein supplementation of postpartum beef cows on estrous behavior and follicle size. *Journal of Animal Science* 78 (Suppl. 1): 212 (Abstract).
 137. Lemaster, J.W., Yelich, J.V., Kempfer, J.R., Schrick, F.N. (1999). Ovulation and estrus characteristics in crossbred Brahman heifers treated with an intravaginal progesterone-releasing insert in combination with prostaglandin F2 α and estradiol benzoate. *Journal of Animal Science* 77: 1860–1868.

138. Livingstone, C., Lyall, H. and Gould, G.W. (1995). Hypothalamic GLUT 4 expression: A glucose- and insulin-sensing mechanism? *Mol. Cell. Endocrinology* 107: 67–70.
139. Lucy, M.C., Savio, J.D., Badinga, L., de la Sota, R.L., Thatcher, W.W. (1992). Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *Journal of Animal Science* 70: 3615-3626.
140. Lucy, M. C., Bilby, C. R., Kirby, C. J., Yuan, W. and Boyd, C. K. (1999). Role of growth hormone in development and maintenance of follicles and corpora lutea. *Journal of Reproduction and Fertility* 54 (Suppl.): 49–59.
141. Lucy, M.C., McDougall, S., Nation, D.P. (2004). The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. *Animal Reproduction Science* 82–83: 495–512
142. MacDonald, R.D., Peters, J.L., Deaver, D.R. (1990). Effect of naloxone on the secretion of LH in infantile and prepubertal Holstein bull calves. *Journal of Reproduction and Fertility* 89: 51-57.
143. Macmillan, K.L., and Peterson, A.J. (1993). A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrus synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. *Animal Reproduction Science* 33: 1-25.
144. Macmillan, K.L., and Burke, C.R. (1996). Effects of oestrus cycle control on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science* 42: 307–320.
145. Macmillan, K.L., Segwagwe, B.V.E., Pino, C.S. (2003) Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. *Animal Reproduction Science* 78: 327–344.
146. Mann, G.E., and Lamming, G.E. (2000). The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. *Animal Reproduction Science* 64: 171–180.

147. Mapletoft, R.J., Martínez, M.F., Adams, G.P., Kastelic, J., and Burnley, C.A. (1999). The effect of estradiol preparation of follicular wave emergence and superovulatory response in norgestomet implanted cattle. *Theriogenology* 47: 411 (Abstract).
148. Martin, G.B., Oldham, C.M., Lindsay, D.R. (1980). Increased plasma LH levels in seasonally anovular Merino ewes following the introduction of rams. *Animal Reproduction Science* 3: 125-132.
149. Martinez, M.F., Bergfelt, D., Adams, G., Kastelic, J., and Mapletoft, R. (1999). Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. *Animal Reproduction Science* 57:23–33.
150. Martínez, M.F., Kastelic, J.P., Adams, G.P., Janzen, E., McCartney, D., Mapletoft, R.J. (2000). Estrus synchronization and fertility in beef cattle given a CIDR and estradiol or GnRH. *Canadian Veterinary Journal* 41: 786–790.
151. Martinez, M.F., Adams, G.P., Kastelic, J.P., Bergfelt, D.R., Mapletoft, R.J. (2000). Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology* 54: 757-769.
152. Martínez, M.F., Kastelic, J.P., Adams, G.P., Cook, B., Olson, W.O., Mapletoft, R.J. (2002) The use of progestins for fixed-timed artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology* 57: 1049-1059.
153. Martínez, M.F., Kastelic, J.P., Adams, G.P., Mapletoft, R.J. (2002b). The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. *Journal of Animal Science* 80: 1746–1751.
154. Matton, P., Adelakoun, V., Couture, Y., Dufour, J.J. (1981). Growth and replacement of the bovine ovarian follicles during the estrous cycle. *Journal of Animal Science* 52: 813-820.
155. McDougall, S., Burke, C.R., Macmillan, K.L. and Williamson, N.B. (1995). Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture-fed dairy cows after calving. *Res. Veterinary Science* 58: 212–216.

156. McDougall, S., Macmillan, K.L. and Williamson, N.B. (1998). Factors associated with a prolonged period of postpartum anoestrus in pasture-fed dairy cattle. *Proc. World Assoc. Buiatrics* 20: 657–662.
157. McGowan, M.R. (1999). Sincronización de celos y programas de inseminación artificial a tiempo fijo en Ganado *Bos indicus* y cruce *Bos indicus*. Resúmenes tercer simposio internacional de Reproducción Animal, Carlos Paz, Córdoba, Argentina, 71-82.
158. McIvor, J.G. (1981). Seasonal changes in the growth, dry matter distribution and herbage quality of three native grasses in northern Queensland. *Australian Journal Exp. Agricultural Animal Husbandry* 21: 600–609.
159. McNatty, K.P., Heath, D.A., Henderson, K.M., Lun, S., Hurst, P.R., Ellis, L.M., Montgomery, G.W., Morrison, L. (1984). Some aspects of thecal and granulosa cell function during follicular development in the bovine ovary. *Journal of Reproduction and Fertility* 72: 39–53.
160. McShane, T.M., Petersen, S.L., McCrone, S., Keisler, D.H. (1993). Influence of food restriction on neuropeptide-Y, pro-opiomelanocortin, and luteinizing hormone-releasing hormone gene expression in sheep hypothalami. *Biology of Reproduction* 49: 831–839.
161. Mihm, M., Baguisi, A., Boland, M.P., Roche, J.F. (1994). Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 102: 123-130.
162. Mikeska, J.C., Williams, G.L. (1988). Timing of preovulatory endocrine events, estrus and ovulation in Brahman × Hereford females synchronized with norgestomet and estradiol valerate. *Journal of Animal Science* 66: 939–946.
163. Miner, J.L. (1992). Recent advances in the central control of intake in ruminants. *Journal of Animal Science* 70: 1283–1289.
164. Montaña, E.L., y Ruiz Cortés, Z.T. (2005). ¿Por qué no ovulan los primeros folículos dominantes de las vacas cebú posparto en el trópico colombiano? *Revista Colombiana Ciencia Pecuaria* Vol. 18: 127-135.

165. Montiel, P.F. (1996). Implementación de un programa de transferencia de embriones Holstein-Cebú criopreservados, sexados y fertilizados *in Vitro* con productores del trópico húmedo. Tesis de Maestría, UNAM, México, D.F.
166. Morrison, D.G., Spitzer, J.C., Perkins, J.L. (1999). Influence of prepartum body condition score change on reproduction in multiparous beef cows calving in moderate body condition. *Journal of Animal Science* 77: 1048–1054.
167. Mukasa-Mugerwa, E. (1989). A Review of Reproductive Performance of Female *Bos indicus* (Zebu) Cattle. ILCA Monograph 6, International Livestock Centre for Africa, Nairobi, Kenya.
168. Murphy, B.D., y Pescador, N. (1997). Métodos para mejorar la respuesta ovulatoria en el Ganado. Memorias séptimo curso internacional de reproducción bovina ; mayo 19-22; México (DF). México (DF); Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, AC: 87-100.
169. Murphy, M.G., Boland, M.P., Roche, J.F. (1990). Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 90: 523–533.
170. Myers, T.R., Myers, D.A., Gregg, D.W., Moss, G.E. (1989). Endogenous opioid suppression of release of luteinizing hormone during suckling in postpartum anestrous beef cows. *Domestic Animals Endocrinology* 6: 183-190.
171. Nett, T.M. (1987). Function of the hypothalamic–hypophyseal axis during the post-partum period in ewes and cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 34 (Suppl.): 201–213.
172. Nett, T.M., Cermak, D., Braden, T., Manns, J., Niswender, G. (1987). Pituitary receptors for GnRH-I and estradiol, and pituitary content of gonadotropins in beef cows. I. Changes during the estrous cycle. *Domestic Animal Endocrinology* 4: 123-132.

173. Nett, T.M., Cermak, D., Braden, T., Manns, J., Niswender, G. (1988). Pituitary receptors for GnRH and estradiol and pituitary content of gonadotropins in beef cows. II. Changes during the postpartum period. *Domestic Animals Endocrinology* 5: 81–89.
174. Nolan, C.J., Bull, R.C., Sasser, R.G., Rudder, C.A., Panlasigui, P.M., Schoeneman, H.M., Reeves, J.J. (1988). Postpartum reproduction in protein restricted beef cows: effect on the hypothalamic–pituitary–ovarian axis. *Journal of Animal Science* 66: 3208–3217.
175. Odde, K.G. (1990). A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *Journal of Animal Science* 68: 817–830.
176. Oliveira, F.E.B. (1974). Age at first calving, service period and calving interval in a Nallore herd. *Animal Breeding* 43: 5799 (Abstract)..
177. Palomares, R., De Ondiz, A., Sandoval, J., Goicochea, J., González, D., Soto, E. (2005). Efecto de dos protocolos hormonales a base de progesterona sobre la tasa de ovulación y ocurrencia de celos anovulatorios en vacas mestizas tropicales. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XV, Nº 3*, 242 – 251.
178. Patterson, D.J., Kiracofe, G.H., Stevenson, J.S., Corah, L.R. (1989). Control of the bovine estrus cycle with melengestrol acetate (MGA): A review. *Journal of Animal Science* 67: 1895-1906.
179. Pérez-Hernández, P., Sánchez del Real , Gallegos Sánchez, J. (2001). Anestro postparto y alternativas de manejo del amamantamiento en vacas de doble propósito. *Investigación Agraria: Producción y Sanidad de Animales* 16: 257-270.
180. Perry, R.C., Corah, L.R., Cochran, R.C., Beal, W.E., Stevenson, J.S., Minton, J.E., Simms, D.D., Brethour, J.R. (1991). Influence of dietary energy on follicular development, serum gonadotrophins, and first postpartum ovulation in suckled beef cows. *Journal of Animal Science* 69: 3762–3773.

181. Peters, A.R., and Lamming G.E. (1990). Lactational anoestrus in farm animals. In: Milligan SR (ed), Oxford Reviews of Reproductive Biology, vol. 12. New York: Oxford University Press: 245-288.
182. Peters, A.R. (2005). Veterinary clinical application of GnRH—questions of efficacy. *Animal Reproduction Science* 88: 155–167.
183. Pierson, R.A. and Ginther O.J. (1987a). Follicular populations during the estrous cycle in heifers I. Influence of day *Animal Reproduction Science* 14: 165–176.
184. Pierson, R.A., and Ginther, O.J. (1987b). Follicular populations during the estrous cycle in heifers II. Influence of right and left sides and intraovarian effect of the corpus luteum. *Animal Reproduction Science* 14: 177–186.
185. Poindron, P., Cognie, Y., Gayerie, F., Orgeur, P., Oldham, C.M., Ravault, J.P. (1980). Changes in gonadotrophins and prolactin levels in isolated (seasonally or lactationally) anovular ewes associated with ovulation caused by the introduction of rams. *Physiology Behavior* 25: 227-236.
186. Prado, R., Rhind, S.M., Wright, I.A., Russel, A.J.F., McMillen, S.R., Smith, A.J., McNeilly, A.S. (1990). Ovarian follicle populations, steroidogenicity and micromorphology at 5 and 9 weeks postpartum in beef cows in two levels of body condition. *Animal Production* 51: 103–108.
187. Pullan, N.B. (1978). Condition scoring of Fulani cattle. *Tropical Animal Health Production* 10: 118-120.
188. Pursley, J.R., Mee, M.O., Wiltbank M.C. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂ α and GnRH. *Theriogenology* 44:915-923.
189. Pursley, J.R., Wiltbank, M.C., Stevenson, J.S., Ottobre, J.S., Garverick, H. A., and Anderson, L. L. (1997). Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *Journal of Dairy Science* 80:295–300.
190. Pursley, J.R., Silcox, R.W., Wiltbank, M.C. (1998). Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender

- ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 81: 2139–2144.
191. Rahe, C.H., Owens, R.E., Fleeger, J.L., Newton, H.J., Harms, P.G. (1980). Patterns of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: Dependence upon the period of the cycle. *Endocrinology* 107: 498-503.
192. Randel, R.D. (1990). Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *Journal of Animal Science* 68: 853–862.
193. Randel, R.D., Lammoglia, M.A., Lewis, A.W., Neuendorff, D.A., Guthrie, M.J. (1996). Exogenous PGFZ α enhanced GnRH-induced LH release in postpartum cows. *Theriogenology* 45: 643-654.
194. Rhodes, R.C.I.I., Randel, R.D., Long, C.R. (1982). Corpus luteum function in the bovine: in vivo and in Vitro evidence for both a seasonal and breed type effect. *Journal of Animal Science* 55: 159–167.
195. Rhodes, F.M., Death, G., Entwistle, K.W. (1995). Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. *Animal Reproduction Science* 38: 265–277.
196. Rhodes, F.M., McDougall, S., Morgan, S.R. and Verkerk, G.A. (2001). Supplementing treated anoestrous dairy cows with progesterone does not increase conception rates. *New Zealand Veterinary Journal* 49: 8–12.
197. Rhodes, F.M., Burke, C.R., Clark, B.A., Day, M.L., Macmillan, K.L. (2002). Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrus cows and cows which have resumed oestrous cycle. *Animal Reproduction Science* 69: 139–150.
198. Rhodes, F.M., McDougall, S., Burke, C.R., Verkerk, G.A., and Macmillan, K.L. (2003). Invited Review: Treatment of Cows with an Extended Postpartum Anestrous Interval. *Journal of Dairy Science* 86: 1876–1894.
199. Richards, M.W., Spitzer, J.C., Warner, M.B. (1986). Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. *Journal of Animal Science* 62: 300–306.

200. Risco, C.A., Drost, M., Archbald, L., Moreira, F., de la Sota, R.L., Burke, J. and Thatcher, W. (1998). Timed artificial insemination in dairy cattle - Part I. *Compend. Continuing Ed. Med. Management* 20: 280–287.
201. Rivera, G.M., Goñi, C.G., Chaves, M.A., Ferrero, S.B. and Bó, G.A. (1998). Follicular wave synchronization and induction of ovulation in postpartum beef cows. *Theriogenology* 49: 1365-1375.
202. Roberts, A.J., Nugent, R.A., Klindt, J., Jenkins, T.G. (1997). Circulating insulin-like growth factor I, insulin like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. *Journal of Animal Science* 75: 1909-1917.
203. Roberson, M.S., Stumpf, T.T., Wolfe, M.W., Cupp, A.S., Kojima, N., Werth, L.A., Kittok, R.J., Kinder, J.E. (1992). Circulating gonadotrophins during restricted energy intake in relation to body condition in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 96: 461–469.
204. Roche, J.F., Mackey, D., Diskin, M.D. (2000). Reproductive management of postpartum cows. *Animal Reproduction Science* 60–61: 703–712.
205. Roche, J.F., Austin, E.J., Ryan, M., O'Rourke, M., Mihm, M., Diskin, M.J. (1999). Regulation of follicle waves to maximize fertility in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility* 54 (Suppl.): 61–71.
206. Roche, J.F., Crowe, M.A., Boland, M.P. (1992). Postpartum anestrus in dairy and beef cows. *Animal Reproduction Science* 28: 371–378.
207. Roche, J.F., and Boland, M.P. (1991). Turnover of dominant follicles in cattle of different reproductive states. *Theriogenology* 35: 81-90.
208. Ruiz-Cortés, Z.T., and Olivera-Ángel, M. (1999). Ovarian follicular dynamics in suckled Zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. *Animal Reproduction Science* 54: 211-220.
209. Rund, L.A., Leshin, L.S., Thompson, F.N., Rampacek, G.B., Kiser, T.E. (1989). Influence of the ovary and suckling on luteinizing hormone response to naloxone in postpartum beef cows. *Journal of Animal Science* 67: 1527-1531.

210. Rutter, L.M., and Randel, R.D. (1984). Postpartum nutrient intake and body condition: effect on pituitary function and onset of estrus in beef cattle. *Journal of Animal Science* 58: 265–274.
211. Rutter, L.M, Snopce, R., Manns, J.G. (1989). Serum concentrations of IGF-I in postpartum beef cows. *Journal of Animal Science* 67: 2060-2066.
212. Rutter, L.M., and Manns, J.G. (1991). Insulin-like growth factor-1 in follicular development and function in postpartum beef cows. *Journal of Animal Science* 69: 1140–1146.
213. Ryan, D.P., Snijders, S., Yaskub, H., O'Farrell, K.J. (1995). An evaluation of estrous synchronization programs in reproductive management of dairy herds. *Journal of Animal Science* 73: 3687-3695.
214. Ryan, D.P., Spoon, R.A., Griffith, M.K., Williams, G.L. (1994). Ovarian follicular recruitment, granulosa cell steroidogenic potential and growth hormone/insulin-like growth factor-1 relationships in suckled beef cows consuming high lipid diets: effects of graded differences in body condition maintained during the puerperium. *Domestic Animal Endocrinology* 11: 161–174.
215. Sahu, A. (2004). Leptin signaling in the hypothalamus: emphasis on energy homeostasis and leptin resistance. *Front Neuroendocrinology* 24: 225–253.
216. Sakase, M., Seo, Y., Fukushima, M., Noda, M., Takeda, K., Ueno, S., Inaba, T., Tamada, H., Sawada, T., Kawate, N. (2005). Effect of CIDR-based protocols for timed-AI on the conception rate and ovarian functions of Japanese Black beef cows in the early postpartum period. *Theriogenology* 64: 1197–1211.
217. Sanz, A., Casasús, I., Villalba, D., Revilla, R. (2003). Effects of suckling frequency and breed on productive performance, follicular dynamics and postpartum interval in beef cows. *Animal Reproduction Science* 79: 57–69.
218. Sánchez, T., Wehman, M.E., Bergfeld, E.G., Peters, K.E., Kojima, F.N., Cupp, A.S., Mariscal, V., Kittok, R.J., Rasby, R.J., Kinder, J.E. (1995). Pregnancy rate is greater when the corpus luteum is present during the

- period of progesting treatment to synchronize time of estrus in cows and heifers. *Biology of Reproduction* 49: 1102-1107.
219. Savio, J.D., Keenan, L., Boland, M.P., Roche, J.F. (1988). Pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle of heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 88: 663-671.
220. Savio, J.D., Boland, M.P., Hynes, N., Roche, J.F. (1990). Resumption of follicular activity in the early post-partum period of cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 88: 569-579.
221. Savio, J.D., Thatcher, W.W., Badinga, L., de la Sota, R.L., Wolfenson, D. (1993). Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 97: 197–203.
222. Schillo, K.K. (1992). Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *Journal of Animal Science* 70: 1271–1282.
223. Schmitt, E.J., Drost, M., Diaz, T., Roomes, C., Thatcher, W.W. (1996). Effect of a Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist on Follicle Recruitment and Pregnancy Rate in Cattle. *Journal of Animal Science* 74: 154–161.
224. Schroeder, H., y Suárez, M. (1991). Influencia del estrés calórico sobre la reproducción y la lactancia. *ACOVEZ* 15: 55-65.
225. Shively, T.E., and Williams, G.L. (1989). Patterns of tonic luteinizing hormone release and ovulation frequency in suckled anestrus beef COWS following varying intervals of temporary weaning. *Domestic Animal Endocrinology* 6: 379-387.
226. Selk, G.E., Wettemann, R.P., Lusby, K.S., Oltjen, J.W., Mobley, S.L., Rasby, R.J., Garmendia, J.C. (1988). Relationship among weight change, body condition and reproductive performance of range beef cows. *Journal of Animal Science* 66: 3153–3159.
227. Short, R.E., Bellows, R.A., Moody, E.L., Howland, B.E. (1972). Effects of suckling and mastectomy on bovine postpartum reproduction. *Journal of Animal Science* 34: 70-74.

228. Short, R.E., and Adams, D.C. (1988). Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. *Canadian Journal of Animal Science* 68: 29.
229. Short, R.E., Bellows, R.A., Staigmiller, R.B., Berardinelli, J.G., Custer, E.E. (1990). Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *Journal of Animal Science* 68: 799-816.
230. Silveira, P.A., Spoon, R.A., Ryan, D.P., Williams, G.L. (1993). Evidence for maternal behavior as a requisite link in suckling-mediated anovulation in cows. *Biology of Reproduction* 49: 1338-1346.
231. Simpson, R.B., Armstrong, J.D., Harvey, R.W. (1992). Effect of prepartum administration of growth hormone releasing factor on somatotropin, insulin-like growth factor I, milk production, and postpartum return to ovarian activity in primiparous beef heifers. *Journal of Animal Science* 70: 1478-1487.
232. Simpson, R.B., Chase, C.C. Jr., Spicer, L.J., Vernon, R.K., Hammond, A.C., and Rae, D.O. (1994). Effect of exogenous insulin on plasma and follicular insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein activity, follicular oestradiol and progesterone, and follicular growth in superovulated Angus and Brahman cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 102: 483–492.
233. Sirois, J., and Fortune, L.E., (1988). Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biology of Reproduction* 39: 308-317.
234. Smith, M.W., and Stevenson, J.S. (1995). Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F_{2α} and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum. *Journal of Animal Science* 73: 3743-3751.
235. Smith, G.D, Jackson, L.M, Foster, D.L. (2002). Leptin regulation of reproductive function and fertility. *Theriogenology* 57: 73-66.
236. Spicer, L.J., Echemkamp, S.E., Canning, S.F., Hammond, J.M. (1988). Relationship between concentrations of immunoreactive insulin-like growth

- factor-I in follicular fluid and various biochemical markers of differentiation in bovine antral follicles. *Biology of Reproduction* 39: 573-580.
237. Spicer, L.J., and Echternkamp, S.E. (1995). The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domestic Animal Endocrinology* 12: 223–245.
238. Spicer, L.J. (2001). Leptin: A possible metabolic signal affecting reproduction. *Domestic Animal Endocrinology* 21: 251–270.
239. Stagg, K., Diskin, M.G., Sreenan, J.M., Roche, J.F. (1995). Follicular development in long-term anoestrus suckler beef cows fed two levels of energy postpartum. *Animal Reproduction Science* 38: 49–61.
240. Stagg, K., Spicer, L.J., Sreenan, J.M., Roche, J.F., Diskin, M.G. (1998). Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. *Biology of Reproduction* 59: 777–783.
241. Stegner, J.E., Kojima, F.N., Bader, J.F., Lucy, M.C., Eilersieck, M.R., Smith, M.F., Patterson, D.J. (2004). Follicular dynamics and steroid profiles in cows during and after treatment with progestin-based protocols for synchronization of estrus. *Journal of Animal Science* 82: 1022–1028.
242. Stevenson, J.S., Knoppel, E.L., Minton, J.E., Salfen, B.E., Garverick, H.A. (1994). Estrus, ovulation, luteinizing hormone, and suckling-induced hormones in mastectomized cows with and without unrestricted presence of the calf. *Journal of Animal Science* 72: 690-699.
243. Stevenson, J.S., Thompson, K.E., Forbes, W.L., Lamb, G.C., Grieger, D.M., and Corah, L.R. (2000). Synchronizing estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and prostaglandin F₂α with or without timed insemination. *Journal of Animal Science* 78:1747–1758.
244. Stevenson, J.S., Lamb, G.C., Johnson, S.K., Medina-Britos, M.A., Grieger, D.M., Harmony, K.R., Cartmill, J.A., El-Zarkouny, S.Z., Dahlen, C.R., Marple, T.J. (2003). Supplemental norgestomet, progesterone or

- melengestrol acetate increases pregnancy rates in suckled beef cows after timed inseminations. *Journal of Animal Science* 81: 571–586.
245. Stevenson, J.S., Pursley, J.R., Garverick, H.A., Fricke, P.M., Kesler, D.J., Ottobre, J.S., Wiltbank, M.C. (2006). Treatment of Cycling and Noncycling Lactating Dairy Cows with Progesterone During Ovsynch. *Journal of Dairy Science* 89: 2567–2578.
246. Stock, A.E., and Fortune, J.E. (1993). Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth and the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology* 132: 1108–1114.
247. Stumpf, T.T., Wolfe, M.W., Wolfe, P.L., Day, M.L., Kittok, R.J., Kinder, J. (1992). Weight changes prepartum and presence of bulls postpartum interact to affect duration of postpartum anestrus in cows. *Journal of Animal Science* 70: 3133-3137.
248. Syrstad, O. (1987). Cattle breeding in the tropics. In: Gravert, H.O. (Ed.), *Dairy Cattle Production*. World Animal Science C3, Elsevier, New York, pp. 291–301.
249. Taylor, C., Rajamahendran, R., Walton, S.J. (1993). Ovarian follicular dynamics and plasma luteinizing hormone concentrations in norgestomet-treated heifers. *Animal Reproduction Science* 32: 173-184.
250. Taneja, V.K. (1999). Dairy breeds and selection. In: Falvey, L., Chantalankhana C. (Eds.), *Smallholder Dairying in the Tropics*. ILRI—International Livestock Research Institute, Nairobi, Kenya, pp. 71–99.
251. Thompson, K.E., Stevenson, J.S., Lamb, G.C., Grieger, D.M., Löest, C.A. (1999). Follicular, hormonal, and pregnancy responses of early postpartum suckled beef cows to GnRH, norgestomet, and prostaglandin F_{2α}. *Journal of Animal Science* 77: 1823–1832.
252. Troxel, T.R., Cruz, L.C., Ott, R.S., Kesler, D.J. (1993). Norgestomet and gonadotropin-releasing hormone enhance corpus luteum function and fertility of postpartum suckled beef cows. *Journal of Animal Science* 71: 2579-2585.

253. Twagiramungu, H., Guilbault, L.A., Proulx, J.G., Villeneuve, P., Dufour, J.J. (1992). Influence of an agonist of gonadotrophin releasing hormone (buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cows. *Journal of Animal Science* 70: 1904–1910.
254. Twagiramungu, H., Guilbault, L., Proulx, J., Ramkumara, R., and Dufour, J. J. (1994). Histological populations and atresia of ovarian follicles in postpartum cattle treated with an agonist of Gonadotropin-Releasing Hormone. *Journal of Animal Science* 72: 192-200.
255. Twagiramungu, H., Guilbault, L.A., Dufour, J.J. (1995). Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. *Journal of Animal Science* 73: 3141-3151.
256. Utt, M. D., Jousan, F. D., Beal, W. E. (2003). The effects of varying the interval from follicular wave emergence to progestin withdrawal on follicular dynamics and the synchrony of estrus in beef cattle. *Journal of Animal Science* 81:1562–1567.
257. Vaccaro, R. (1990). Comportamiento de bovinos para doble propósito en el trópico, Seminario Internacional sobre Lechería Tropical. Villahermosa, Tabasco, México, pp. 14–35.
258. Viana, J.H.M., Ferreira, A.M., Sá, W.F., Camargo, L.S.A., Freitas, C., Santos, J.C. (1998). Follicular Dynamics in Gyr Cattle. *Arq. Fac. Vet. UFRGS, Porto Alegre, Brazil*, 26 (Suppl.): 379 (abstract).
259. Vizcarra, J.A., Wettermann, R.P., Spitzer, J.C., Morrison, D.G. (1998). Body condition at parturition and postpartum weight gain influence luteal activity and concentrations of glucose, insulin and non-esterified fatty acids in plasma of primiparous beef cows. *Journal of Animal Science* 76: 493–500.
260. Viker, S.D., Larson, R.L., Kiracofe, G.H., Stewart, R.E., Stevenson, J.S. (1993). Prolonged postpartum anovulation in mastectomized cows requires tactile stimulation by the calf. *Journal of Animal Science* 71: 999-1003.

261. Walters, D.L., Kaltenbach, C.C., Dunn, T.G., Short, R.E. (1982a). Pituitary and ovarian function in postpartum beef cows. I. Effect of suckling on serum and follicular fluid hormones and follicular gonadotropin receptors. *Biology of Reproduction* 26: 640–646.
262. Walters, D.L., Short, R.E., Convey, E.M., Staigmiller, R.B., Dunn, T.G., Kaltenbach, C.C. (1982b). Pituitary and ovarian function in postpartum beef cows. II. Endocrine changes prior to ovulation in suckled and nonsuckled postpartum cows compared to cycling cows. *Biology of Reproduction* 26:647-654.
263. Walters, D.L., Short, R.E., Convey, E.M., Staigmiller, R.B., Dunn, T.G., Kaltenbach, C.C. (1982c). Pituitary and ovarian function in postpartum beef cows. III. Induction of estrus, ovulation and luteal function with intermittent small dose injections of GnRH. *Biology of Reproduction* 26: 655-662.
264. Walton, J.S., Yavas, Y., Goodwin, M., Watson, C.H. (1992). Reproductive performance of beef cows at the Elora Research Station (1989-1991). *Beef Research Update*. University of Guelph, O.A.C. Publication No. 0393. 29-31.
265. Weiss, T.J., Nancarrow, C.D., Armstrong, D.T., Donnelly, J.B. (1981). Modulation of functional capacity of small ovarian follicles in the post-partum cow by prolactin. *Australian Journal of Biology Science* 34: 479-489.
266. Webb, R., Campbell, B.K., Garverick, H.A., Gong, J.G., Gutierrez, C.G., and Armstrong, D.G. (1999). Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. *Journal of Reproduction and Fertility* 54 (Suppl.): 33–48.
267. Wettemann, R.P., Turman, E.J., Wyatt, R.D., Totusek, R. (1978). Influence of suckling intensity on reproductive performance of range cows. *Journal of Animal Science* 47: 342-346.
268. Wettemann, R.P., Hill, G.N., Boyd, M.E., Spitzer, J.C., Forrest, D.W., Beal, W.E. (1986). Reproductive performance of postpartum beef cows after short-term calf separation and dietary energy and protein supplementation. *Theriogenology* 26: 433–443.

269. Wettemann, R.P. (1994). Precalving nutrition/birth weight interaction and rebreeding efficiency. Oklahoma State University (Ed.), Animal Science Res. Report.
270. Wettemann R.P. and Bossis, I. (2000). Nutritional regulation of ovarian function in beef cattle. Journal of Animal Science. Available: <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0934.pdf>. Accessed 2000.
271. Wettemann, R.P., Lents, C.A., Ciccioli, N.H., White, F.J. and Rubio, I. (2003). Nutritional- and suckling-mediated anovulation in beef cows. Journal of Animal Science 81 (Suppl. 2): E48–E59.
272. Wheeler, M.B., Anderson, G.B., Munro, C.J., Stabenfeldt, G.H. (1982). Prolactin response in beef cows and heifers suckling one or two calves. Journal of Reproduction and Fertility 64: 243-249.
273. Williams, G.L., and Ray, D.E. (1980). Hormonal and reproductive profiles of early postpartum beef heifers alter prolactin suppression or steroid-induced luteal function. Journal of Animal Science 50: 906-918.
274. Williams, G.L., Kotwica, J., Slanger, W.D., Olson, D.K., Tilton, J.E., Johnson, L.J. (1982). Effect of suckling on pituitary responsiveness to gonadotropin-releasing hormone throughout the early postpartum period of beef cows. Journal of Animal Science 54: 592–602.
275. Williams, G.L., Kirsch, J.D., Post, G.R., Tilton, J.E., Slanger, W.D. (1984). Evidence against chronic teat stimulation as an autonomous effector of diminished gonadotropin release in beef cows. Journal of Animal Science 59: 1060-1069.
276. Williams, G.L., Kozirowski, M., Osborn, R.G., Kirsch, J.D., Slange, W.D. (1987). The postweaning rise of tonic luteinizing hormone secretion in anestrus cows is not prevented by chronic milking or the physical presence of the calf. Biology of Reproduction 36:1079-1084.
277. Williams, G.L. (1990). Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. Journal of Animal Science 68: 831–852.

278. Williams, G.L., and Griffith, M.K. (1992). Maternal behavior and neuroendocrine regulation of suckling-mediated anovulation in cows. *Journal of Physiology and Pharmacological* 43 (Suppl. 1): 165-177.
279. Williams, G.L., McVey, W.R. Jr, Hunter, J.F. (1993). Mammary somatosensory pathways are not required for suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion and delay of ovulation in cows. *Biology of Reproduction* 49: 1328-1337.
280. Williams, G.L., and Griffith, M.K. (1995). Sensory and behavioural control of gonadotrophin secretion during suckling-mediated anovulation in cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 49 (Suppl.): 463–475.
281. Williams, G.L., Williams, S.W., Stanko, R.L., Amstalden, M. (2000). Control de la ovulación y alternativas de manejo para el servicio de ganado cruza Brahman. En anexo del Módulo 5, Curso de Post-grado en reproducción Bovina, IRAC, Córdoba, Argentina; 1-4.
282. Williams, G.L., Amstalden, M., Garcia, M.R., Stanko, R.L., Nizielski, S.E., Morrison, C.D. and Keilser, D.H. (2002). Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. *Domestic Animals Endocrinology* 23: 339–349.
283. Wiltbank, M.C., Gtimen, A., and Sartori, R. (2002). Physiological Classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57: 21-52.
284. Wright, I.A., Rhind, S.M., Russel, A.J.F., Whyte, T.K., McBean, A.J., McMillen, S.R. (1987). Effects of body condition, food intake and temporary calf separation on the duration of the post-partum anoestrus period and associated LH, FSH and prolactin concentrations in beef cows. *Animal Production* 45: 395–402.
285. Wright, P.J., and Malmo, J. (1992). Pharmacologic Manipulation of Fertility. *Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice* 8: 57-63.
286. Wright, I.A., Rhind, S.M., Whyte, T.K., Smith, A.J. (1992). Effects of body condition at calving and feeding level after calving on LH profiles and the

- duration of the post-partum anoestrous period in beef cows. *Animal Production* 55: 41–46.
287. Xu, Z.Z., Verkerk, G.A., Mee, J.F., Morgan, S.R., Clark, B.A., Burke, C.R., and Burton, L.J. (2000a). Progesterone and follicular changes in postpartum noncyclic dairy cows after treatment with progesterone and estradiol or with progesterone, GnRH, PGF₂ α and estradiol. *Theriogenology* 54: 273–282.
288. Xu, Z.Z., Burton, L.J., McDougall, S., Jolly, P.D. (2000). Treatment of Noncyclic Lactating Dairy Cows with Progesterone and Estradiol or with Progesterone, GnRH, Prostaglandin F₂ α and Estradiol. *Journal of Dairy Science* 83: 464–470.
289. Yavas, Y., Johnson, W.H., Walton, J.S. (1999). Modification of follicular dynamics by exogenous FSH and progesterone, and the induction of ovulation using hCG in postpartum beef cows. *Theriogenology* 52: 949-963.
290. Yavas, Y., and Walton, J.S. (2000a). Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. *Theriogenology* 54: 1–23.
291. Yavas, Y., and Walton, J.S. (2000b) Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. *Theriogenology* 54: 25-55.
292. Yelich, J.V. (2002). A vaginal insert (CIDR) to synchronize estrus and timed-AI. In: Fields, M.J., Sands, R.S., Yelich, J.V. (Eds.), *Factors Affecting Calf Crop: Biotechnology of Reproduction*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 87–100.
293. Yoshioka, K., Suzuki, C., Arai, S., Iwamura, S., Hirose, H. (2001). Gonadotropin-releasing hormone in third ventricular cerebrospinal fluid of the heifer during the estrous cycle. *Biology of Reproduction*. 64: 563–570.
294. Zalesky, D.D., Forrest, D.W., McArthur, N.H., Wilson, J.M., Morris, D.L., Harms, P.G. (1990). Suckling inhibits release of luteinizing hormone-releasing hormone from the bovine median eminence following ovariectomy. *Journal of Animal Science* 68: 444-448.

295. Zeitoun, M.M., Rodriguez, H.F., Randel, R.D. (1996). Effect of season on ovarian follicular dynamics in Brahman cows. *Theriogenology* 45: 1577–1581.
296. Zollers, W.G.J., Garverick, H.A. and Smith, M.F. (1989). Oxytocin induced release of prostaglandin F₂ α in postpartum beef cows: Comparison of short versus normal luteal phases. *Biology of Reproduction* 41: 262–267.
297. Zollers, W.G. Jr., Garverick, H.A., Youngquist, R.S., Ottobre, J.S., Silcox, R.W., Copelin, J.P., Smith, M.F. (1991). In vitro secretion of prostaglandins from endometrium of postpartum beef cows expected to have short or normal luteal phases. *Biology of Reproduction* 44: 522-526.
298. Zollers, W.G.J., Garverick, H.A., Smith, M.F., Moffatt, R.J., Salfen, B.E. and Youngquist, R.S. (1993). Concentration of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrus cycle. *Journal of Reproduction and Fertility* 97: 329–337.
299. Zurek, E., Foxcroft, G.R., Kennelly, J.J. (1995). Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 78: 1909-1920.