

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

**Instituto de Ciencias Agrícolas
Instituto en Investigaciones en Ciencias Veterinarias**



**PARÁMETROS REPRODUCTIVOS, CARACTERÍSTICAS
FISIOLÓGICAS DEL CICLO ESTRAL Y EFECTO DE
eCG EN LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO DE BOVINOS
CRIOLLOS DEL ESTADO DE CHIHUAHUA**

**TESIS
QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**PRESENTA
ANDRÉS QUEZADA CASASOLA**

**DIRECTOR
Ph. D. LEONEL AVENDAÑO REYES**

Esta tesis fue realizada bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito para obtener el grado de:

Doctorado en Ciencias Agropecuarias

Consejo particular

Ph. D. Leonel Avendaño Reyes
Director de tesis

Dr. C. Ulises Macías Cruz
Sinodal

Ph. D. Abelardo Correa Calderón
Sinodal

Ph. D. José Alejandro Ramírez Godínez
Sinodal

Dr. Enrique Gilberto Álvarez Almora
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

Aunque existe una gran cantidad de personas a las que debo agradecer su ayuda en la realización del presente proyecto, debo agradecer en primer lugar a Dios por permitirme llegar a esto. Agradezco también a los miembros de mi comité de grado, especialmente a mi asesor principal, Ph. D. Leonel Avendaño Reyes por siempre estar ahí, al Ph. D. Abelardo Correa Calderón por colocarme en el sitio adecuado en el momento adecuado, al Ph. D. José Alejandro Ramírez Godínez por su ayuda incondicional en este y muchos otros asuntos y al Dr. Ulises Macías Cruz, por su amistad y compañerismo.

De la misma forma, deseo expresar mi agradecimiento a todo el personal de las oficinas PROMEP de la UACJ, especialmente a Araceli Rivera Heredia, cuya ayuda y excepcional disponibilidad fueron fundamentales.

Además de ellos, quiero agradecer ampliamente a los M.V.Z. responsables del Rancho Universitario de la UACJ, Francisco Javier Carlos Pérez y Juan Rodrigo Núñez Cuesta por su amistad, los buenos tiempos y todas las facilidades proporcionadas para llevar a cabo el presente estudio en el rancho “El Cilantrillo”, así como al M.V.Z. Octavio Apodaca Barrio y Javier Apodaca Barrio del rancho “El Cuerno” por su amistad y por el gran apoyo prestado a la realización de los experimentos realizados.

DEDICATORIAS

Dedico el presente estudio y todo lo que él conlleva a mi esposa Ariadna, mi hija Ary Georgina y mi hijo Andrés, agradeciendo profundamente todos los sacrificios, tiempo y esfuerzo que me han dedicado, así como a mis señores padres Andrés y Lourdes, a quienes nunca terminaré de agradecer.

ÍNDICE TEMÁTICO

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DECICATORIAS.....	iv
ÍNDICE TEMÁTICO.....	v
LISTA DE CUADROS.....	viii
LISTA DE GRÁFICAS.....	ix
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 El ganado Criollo en México.....	4
2.1.1 Origen racial.....	5
2.1.2 Importancia.....	5
2.1.3 Situación actual.....	6
2.2 Fisiología reproductiva y manipulación del ciclo estral en bovinos.....	8
2.2.1 Desarrollo folicular y oleadas foliculares.....	8
2.2.2 Función lútea.....	11
2.2.3 Manipulación hormonal del ciclo estral.....	12
2.3 Actividad reproductiva del ganado Criollo y otras razas nativas.....	16
2.3.1 Manipulación del estro y la ovulación en ganado Criollo.....	17
3. CARACTERÍSTICAS CONDUCTUALES, FOLICULARES Y HORMONALES DEL CICLO ESTRAL EN GANADO CRIOLLO DEL ESTADO DE CHIHUAHUA.....	20
3.1 Resumen.....	20
3.2 Abstract.....	21
3.3 Introducción.....	22
3.4 Materiales y métodos.....	24
3.4.1 Animales y manejo.....	24
3.4.2 Sincronización y detección del estro.....	25
3.4.3 Ultrasonografía.....	25
3.4.4 Toma de muestras de sangre y análisis hormonales.....	27
3.4.5 Análisis estadístico.....	29
3.5 Resultados.....	31

3.6 Discusión.....	40
3.7 Conclusiones.....	45
4. ACTIVIDAD OVÁRICA Y SECRECIÓN DE PROGESTERONA EN CICLOS ESTRALES DE DOS Y TRES ONDAS FOLICULARES DE GANADO CRIOLLO DEL ESTADO DE CHIHUAHUA.....	46
4.1 Resumen.....	46
4.2 Abstract.....	47
4.3 Introducción.....	48
4.4 Materiales y métodos.....	50
4.4.1 Animales y manejo.....	50
4.4.2 Caracterización del ciclo estral.....	51
4.4.3 Identificación de las ondas foliculares.....	52
4.4.4 Desarrollo de folículos anovulatorios y ovulatorios.....	53
4.4.5 Desarrollo del cuerpo lúteo.....	54
4.4.6 Funcionalidad del cuerpo lúteo y determinación de las concentraciones de progesterona.....	55
4.4.7 Análisis estadístico.....	55
4.5 Resultados.....	56
4.5.1 Caracterización del ciclo estral.....	56
4.5.2 Desarrollo folicular y lúteo.....	56
4.5.3 Funcionalidad del CL.....	58
4.6 Discusión.....	61
4.7 Conclusiones.....	68
5. APLICACIÓN DE eCG EN SUSTITUCIÓN DE ESTRADIOL POST-RETIRO DEL CIDR EN GANADO CRIOLLO SOMETIDO A UN PROTOCOLO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.....	69
5.1 Resumen.....	69
5.2 Abstract.....	70
5.3 Introducción.....	70
5.4 Materiales y métodos.....	72
5.4.1 Análisis estadístico.....	75

5.5 Resultados.....	76
5.4.1 Experimento 1: Vacas.....	76
5.4.2 Experimento 1: Vaquillas.....	79
5.6 Discusión.....	81
5.7 Conclusiones.....	88
6. LITERATURA CITADA.....	89

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Comportamiento de la oleada preovulatoria de la LH después del estro sincronizado con PGF _{2α} en vacas Criollas.....	35
Cuadro 2. Comparación de la dinámica folicular de la oleada onda ovulatoria en ciclos de dos y tres ondas foliculares en vacas Criollas.....	36
Cuadro 3. Características generales del ciclo estral en vacas Criollas.....	39
Cuadro 4. Caracterización de ciclos estrales con dos y tres ondas foliculares en vacas Criollas.....	57
Cuadro 5. Dinámica de los folículos anovulatorios y ovulatorios y del cuerpo lúteo en ciclos de dos y tres ondas foliculares en vacas Criollas....	59
Cuadro 6. Concentraciones séricas de progesterona durante la fase lútea en ciclos estrales de dos y tres ondas foliculares de vacas Criollas.....	60
Cuadro 7. Conducta estrual, respuesta ovulatoria y tasa de preñez de vacas Criollas tratadas con eCG o Estradiol 24 h post-retiro del dispositivo vaginal CIDR.....	80
Cuadro 8. Conducta estrual, respuesta ovulatoria y tasa de preñez de vaquillas Criollas tratadas con eCG o Estradiol 24 h post-retiro del dispositivo intravaginal CIDR.....	82

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Distribución de intervalos de tiempo del inicio del estro a la ovulación en estro sincronizado o natural de vacas Criollas.....	32
Gráfica 2. Concentraciones séricas de la LH del estro sincronizado con $\text{PGF}_{2\alpha}$ en vacas Criollas.....	33
Gráfica 3. Diámetro del folículo dominante y concentraciones séricas de progesterona entre dos ovulaciones consecutivas en ciclos estrales de dos y tres ondas foliculares.....	38
Gráfica 4. Protocolos hormonales de sincronización del estro y de la ovulación utilizados en vacas y vaquillas Criollas sincronizadas con benzoato de estradiol, progesterona y $\text{PGF}_{2\alpha}$ tratadas con cipionato de estradiol y gonadotropina coriónica equina.....	74
Gráfica 5. Distribución de vacas y vaquillas Criollas en estro por efecto de estradiol o eCG 24 h post-retiro del dispositivo intravaginal de progesterona.....	77
Gráfica 6. Distribución de vacas y vaquillas Criollas que presentaron ovulación por efecto de estradiol o eCG 24 h post-retiro del dispositivo intravaginal de progesterona.....	78

1. INTRODUCCIÓN

En el norte de México y particularmente en el estado de Chihuahua, los sistemas de producción vaca-becerro tienen como objetivo principal la producción de becerros para exportación a Estados Unidos. Desde la introducción de razas especializadas en la producción de carne y durante muchos años, la ganadería en Chihuahua ha dedicado sus esfuerzos a la implementación de sistemas eficientes que permitan obtener la mayor cantidad de Kg de becerro al menor costo posible, utilizando principalmente los agostaderos de las regiones del centro y noroeste del estado, en las que predominan pastos nativos. Es indudable la importancia de la producción de becerros en la economía del estado y del norte del país, no obstante, existen otras alternativas que resultan eficaces para la implementación de sistemas de producción bovina.

En las últimas décadas ha cobrado interés la explotación del ganado Criollo, originario del estado de Chihuahua, en las actividades deportivas del rodeo en México, Estados Unidos, Canadá y otros países. El interés por esta raza bovina obedece principalmente a que sus características fenotípicas tales como la presencia de cuernos, agilidad y resistencia entre otras, resultan idóneas para su desempeño en los eventos deportivos antes mencionados (Félix-Portillo *et al.*, 2006). Recientemente, el ganado Criollo ha generado interés como productor de carne, considerando que los costos de producción son significativamente menores en comparación con los animales de otras razas especializadas y que la carne de estos animales es más magra, por lo que resulta ideal para la implementación de sistemas alternativos de producción de carne orgánica.

En general, la ganadería Criolla de Chihuahua presenta grandes deficiencias, entre las que se encuentran: la insuficiente producción de novillos Criollos para exportación cubrir las demandas establecidas por los compradores norteamericanos, el precio del ganado en las regiones en las que se produce generalmente es bajo, el porcentaje de parición en los hatos es de aproximadamente 50 %, existe poca innovación, validación y transferencia de tecnología aplicable a las condiciones específicas de esta raza, y otras (Rios, 2010). Entre los aspectos a considerar en la transferencia de tecnología al sistema ganadero Criollo se encuentran los económicos, sociales, nutricionales y reproductivos, los cuales deben contribuir a aumentar la eficiencia en su producción (Ríos y Rodríguez, 1998). Un ejemplo de la necesidad de avances tecnológicos en el ganado Criollo es la falta de implementación de programas de mejoramiento genético. Es bien sabido que la genética juega un papel de gran importancia en la eficiencia de los sistemas de producción pecuarios y el ganado Criollo no es la excepción. Asimismo, la implementación de este tipo de programas involucra técnicas de reproducción asistida como la inseminación artificial (IA) y la transferencia de embriones (TE). A este respecto es necesario hacer notar que los programas que han intentado establecerse anteriormente han tenido resultados desfavorables, debido entre otras causas, a que en las hembras de ganado Criollo no ha sido posible la obtención de porcentajes de preñez similares a los obtenidos en ganado productor de carne o leche mediante la IA o TE (Torres-Simental *et al.*, 1997; Ramírez-Godínez *et al.*, 1998). Según resultados de estudios anteriores, la fisiología reproductiva del ganado Criollo difiere en algunos aspectos a la de otras razas, por lo que posiblemente esta raza requiera el desarrollo de programas de sincronización del estro, ovulación y

superovulación específicos (Zárate-Martínez *et al.*, 2006). Es importante considerar que el buen entendimiento de las características fisiológicas y conductuales del ciclo estral (CE) es fundamental para llevar a cabo cualquier manipulación de sus eventos. Por lo tanto, los objetivos de este estudio fueron: 1) caracterizar el ciclo estral del ganado Criollo bajo condiciones ambientales del norte de Chihuahua, 2) evaluar el efecto del número de oleadas foliculares sobre las características del ciclo estral de ese ganado y 3) evaluar el efecto de la aplicación de eCG en sustitución de estradiol en un protocolo de sincronización e inseminación artificial aplicado a vacas y vaquillas Criollas.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El ganado Criollo en México

Se conoce como ganado Criollo mexicano a los bovinos descendientes del ganado español traído al continente americano en la última década del siglo XV. Este ganado se encuentra distribuido principalmente en las regiones serranas de algunos estados como Chihuahua, Guerrero, Oaxaca, Puebla, Baja California Sur y Nayarit y es conocido comúnmente con otros nombres como ganado Corriente, ganado deportivo, Rodeos, entre otros (Hernández, 2012). Aunque existe una gran cantidad de ganado descendiente de razas europeas (Angus, Hereford, Charolais, etc.) y Cebú o Brahman, al ganado Criollo se le considera como un grupo racial que conserva las características producto de la mezcla de razas de ganado español y no las del ganado especializado en la producción de carne o leche, o las de ganado *Bos indicus* (Rios, 2010).

En el estado de Chihuahua, el ganado Criollo fue introducido a las comunidades ganaderas alrededor del año 1620, en donde prevaleció por muchos años bajo sistemas de explotación casi nulos (Rios, 2010). Al final del siglo XIX, hubo cambios importantes en la explotación ganadera en el estado que incluyeron la participación de compañías extranjeras, importación de pies de cría de razas especializadas, concentración de la producción ganadera en algunas zonas y el inicio de la exportación de ganado para abasto, que si bien dieron un realce económico, provocaron el desplazamiento del ganado Criollo a zonas serranas del estado, las cuales se caracterizan por ser de difícil acceso y por presentar condiciones ambientales agrestes para la ganadería (Ramírez-Godínez *et al.*, 1998). Durante la

década de 1960 se observó un resurgimiento en las actividades relacionadas con la ganadería Criolla en el norte de México, debido principalmente al aprovechamiento de las características físicas de los animales Criollos, que resultan idóneas para las actividades deportivas del rodeo, como el lazo doble y el achatado de novillos. El aprovechamiento de los animales Criollos por sus características fenotípicas relacionadas con el rodeo prevalece en la actualidad (Ríos, 2010).

2.1.1 Origen racial

El ganado Criollo es descendiente de animales de varios orígenes y constituciones genéticas, principalmente de España y el norte de África. De esta amplia base genética se originaron las razas españolas que a su vez dieron origen al ganado Criollo mexicano; entre estas razas se encuentran la Asturiana, Murciana, Blanca cacereña, Alistana-Sanabranesa, Retinta, Berrenda en colorado, Berrenda, Galicia, Berrenda en negro, Andaluza, Canaria, Rubia gallega, Negra andaluza, y Caldelana. Algunas de estas razas aun se encuentran establecidas en sistemas de producción bovina en países europeos (Ríos, 2010).

2.1.2 Importancia

El ganado Criollo se ha convertido en un biotipo de gran interés comercial para las actividades deportivas del rodeo en Estados Unidos y Canadá debido a que posee características como resistencia física, agilidad, forma y tamaño de los cuernos, principalmente (Félix-Portillo *et al.*, 2006), así como por su producción de carne magra bajo sistemas de producción rústicos con bajos costos de

mantenimiento. Lo anterior ha llevado a que la producción de este ganado resulte benéfica para la economía del país, específicamente para el estado de Chihuahua.

Se estima que la demanda anual es de unos 40,000 novillos para el rodeo en Estados Unidos exclusivamente (Fierro y Torres, 1996) y aunque dicha demanda aumenta considerablemente cada año, no ocurre lo mismo con el número de cabezas exportadas (Hawkes *et al.*, 2006), así, en el período comprendido de 2002 a 2007, el estado de Chihuahua exportó 75,402 cabezas de esta raza hacia Estados Unidos, lo que representó aproximadamente 2% del total de los novillos exportados en el estado (Fierro y Torres, 1996; SDR, 2007). Por otra parte, en el estado de Chihuahua el ganado Criollo de Rodeo tiene importancia económica especialmente en las comunidades indígenas de la sierra Tarahumara, donde cada animal actúa como patrimonio familiar, como fuente de proteína y como auxiliar en actividades agrícolas para más de 7,000 familias que habitan en municipios de alta y muy alta marginación en el estado de Chihuahua (Ríos, 2010).

2.1.3 Situación actual

Actualmente, la mayoría del ganado Criollo se encuentra localizado en las regiones serranas del estado de Chihuahua y en otros municipios como Aldama, Balleza, Batopilas, Belisario Domínguez, Bocoyna, Camargo, Carichí, Casas Grandes, Chínipas, Chihuahua, Guadalupe y Calvo, Cuauhtémoc, Guachochi, Cusihuiriachi, Guazapares, Guerrero, Maguarichi, Namiquipa, Morelos, Rosales, Moris, Valle de Allende, Ocampo, Urique y Uruachi, siendo el suroeste del estado la principal región productora de ganado Criollo en el estado (Hernández, 2012). No obstante, también en algunos municipios de la región desértica del estado como

Ahumada, Juárez, Guadalupe Distrito Bravos y Praxedis G. Guerrero se encuentran establecidos algunos criadores de ganado Criollo (Ríos, 2010).

La situación actual de la ganadería Criolla, percibida por los productores de ganado criollo en la sierra de Chihuahua, indica que aunque solo el 29% de los productores manifiesta que depende directamente de esta actividad; el ingreso generado por la cría de ganado Criollo es considerado importante para la magra economía de los numerosos habitantes marginados de la sierra de Chihuahua, de tal forma que, en el caso de las etnias indígenas, la crianza de ganado bovino tiene el papel de “banco viviente” y constituye además la principal fuente de tracción animal para la agricultura (Ríos, 2010). Por lo anterior, recientemente se ha reconocido la falta de conocimiento del estado actual del sistema de producción de ganado Criollo. Como parte de las acciones orientadas a determinar la situación actual de este sistema de producción en Chihuahua, se ha creado la Agencia para la Gestión de la Innovación Chihuahua, Ganado Criollo (AGI; Mendoza, 2007), asimismo, la Asociación de Criadores de Ganado Criollo Mexicano, que han contribuido a realizar estudios relacionados con la caracterización fenotípica, genotípica y nutricional, además de la distribución geográfica en el estado (Russell *et al.*, 2000; Hernández, 2001). Sin duda, dichas acciones han contribuido en gran medida al entendimiento de las características del sistema de producción y sus posibles modificaciones y adelantos, no obstante, aun existen grandes deficiencias. En la actualidad, la mayoría de los hatos de ganado Criollo del estado de Chihuahua son pequeños (< 50 animales; Ríos, 2010) y en ellos prevalecen los programas de empadre continuo, en los cuales, aunque existe la intención de implementar programas de manejo

reproductivo y mejoramiento genético, las condiciones climáticas, económicas y culturales dificultan el establecimiento de acciones concretas.

2.2 Fisiología reproductiva y manipulación del ciclo estral en bovinos

El CE comprende el período transcurrido entre dos estros. En la vaca, el CE tiene una duración media de 21 d, que puede variar entre 19 y 23 d. Durante la etapa de estro, la hembra se encuentra receptiva sexualmente al macho o a alguna otra hembra y tiene una duración de 12 a 18 h (Hernández, 2002). Después del estro se presenta la ovulación para, en su lugar, dar paso a la formación de un cuerpo lúteo (CL). Cuando la gestación no ocurre, el CL es destruido por efecto de la prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), iniciando así un nuevo ciclo (Adams *et al.*, 2008).

2.2.1 Desarrollo folicular y oleadas foliculares

Durante el CE, el desarrollo folicular se puede clasificar en dos etapas: 1) la etapa basal que comprende el crecimiento folicular hasta 3 ó 4 mm de diámetro y no es dependiente de las gonadotropinas y 2) la etapa tónica, que abarca el crecimiento del folículo a partir de 4 mm de diámetro hasta que se convierte en un preovulatorio (Peter *et al.*, 2009). Esta segunda etapa se presenta en forma de oleadas, las cuales son constituidas por períodos de reclutamiento, selección y dominancia de los folículos (Adams *et al.*, 2008). En los CE de la vaca se presentan generalmente entre 2 y 3 oleadas foliculares; cada oleada inicia cuando los folículos antrales (≥ 4 mm) de un grupo son estimulados a continuar su desarrollo en el proceso conocido como reclutamiento folicular. Después se produce la selección, durante la cual un solo folículo continúa creciendo, convirtiéndose en un folículo dominante (FD), mientras

que sus compañeros de oleada (subordinados) sufren atresia. El folículo seleccionado se convierte en dominante mediante la inhibición de la diferenciación y crecimiento de los folículos subordinados, y si el dominante no llega a ovular después de cierto tiempo, sufre atresia y se continúa una nueva oleada de desarrollo folicular (Hernández, 2002). El folículo que es dominante al tiempo del inicio de la regresión lútea se convertirá en el folículo ovulatorio (Gimenes *et al.*, 2008).

El folículo seleccionado en cada oleada folicular tiene ciertas características que le permiten seguir creciendo y lo preparan para una posible ovulación; este folículo se encuentra muy irrigado y produce grandes cantidades de estradiol, mientras que los folículos no seleccionados pierden su capacidad aromatizante y producen una menor cantidad de esta hormona, por lo que tienen una mayor concentración de progesterona (P_4) y androstenediona en su cavidad (Hernández, 2002).

La FSH es necesaria para el inicio de cada oleada folicular, mientras que la LH interviene de manera importante en la maduración del folículo. En las condiciones en las que las concentraciones de la LH no son las adecuadas, los folículos no alcanzan el grado de madurez fisiológica para ovular (Hernández, 2002; Bleach, 2004). En el inicio de una oleada folicular se ha observado que los incrementos en las concentraciones de la FSH, se traducen en oleadas de crecimiento de los folículos. Entre 24 y 36 h después del pico preovulatorio de gonadotropinas ocurre un segundo pico de la FSH, el cual produce el inicio de la primera oleada folicular del nuevo ciclo (Hernández, 2002).

Cuando un folículo se selecciona y desarrolla su dominancia, la inhibina y estradiol producidos provocan que las concentraciones de la FSH disminuyan, así,

las concentraciones séricas de la FSH no son suficientes para seguir promoviendo el crecimiento de los folículos subordinados restantes y posteriormente sufren atresia (Adams *et al.*, 2008). A su vez, el FD continúa su desarrollo a pesar de existir bajas concentraciones de la FSH. Esto probablemente se debe a que en el FD se desarrolla un marcado aumento en la sensibilidad a la FSH, lo que posiblemente esté relacionado con la secreción de IGF-I y activina, las cuales amplifican la acción de la FSH en el folículo (Hernández, 2002). Por otra parte, el folículo que ha alcanzado un determinado grado de desarrollo requiere principalmente de la LH para seguir creciendo. Dicho efecto de la LH sobre el FD se acompaña del aumento de la síntesis de receptores para la LH en las células de la granulosa (Hernández, 2002; Zieba *et al.*, 2005).

La ocurrencia de un determinado número de oleadas foliculares en un CE de una vaca no obedece a factores relacionados con su raza o edad (Ginther *et al.*, 1989; Sartori *et al.*, 2011), no obstante, el número de oleadas foliculares en los CE de un grupo de hembras tiene implicaciones importantes en su manejo reproductivo, considerando que el porcentaje de fertilidad puede depender de ello en cierta medida (Ginther *et al.*, 1989). A este respecto se han obtenido resultados variables, con porcentajes de gestación menores después de la ovulación de FD provenientes de ciclos de dos oleadas, en comparación con los FD de ciclos de tres oleadas (81 y 63%, respectivamente; Townson *et al.*, 2002) y porcentajes de gestación similares en ciclos de dos y tres oleadas (82 y 100%, respectivamente; Ahmad *et al.*, 1997; 55 y 63%, respectivamente; Bleach *et al.*, 2004). Asimismo, se ha reportado que la duración del CE, el diámetro folicular y las concentraciones séricas de estradiol y P₄ tienen cierta relación con el número de oleadas foliculares en un CE, siendo mayores

en los CE de tres oleadas, por lo que es posible asumir que dicha característica puede ejercer cierto efecto sobre el estro, la ovulación y la subsiguiente gestación (Townson *et al.*, 2002; Noseir, 2003; Bleach *et al.*, 2004).

2.2.2 Función lútea

Se conoce como luteinización al conjunto de cambios morfológicos, endocrinos y enzimáticos que ocurren en el folículo preovulatorio que se transforma en un CL (Peter *et al.*, 2009). La luteinización inicia incluso antes de la ovulación, como respuesta al aumento en las concentraciones séricas de la LH a partir de la oleada preovulatoria (Adams *et al.*, 2008). En la vaca, la ovulación ocurre en promedio 30 h después de la oleada preovulatoria de la LH, y esta hormona regula los cambios durante y después de la ruptura folicular (Ginther *et al.*, 1989). Después de la ovulación, las células de la teca interna y granulosa se distribuyen en la cavidad que anteriormente ocupaba el líquido folicular. Las células de la teca interna se diferencian y multiplican, dando origen a células lúteas chicas, mientras que las células de la granulosa se hipertrofian pero no se multiplican, dando como resultado un número igual de células lúteas grandes. Aunado a esto, se inicia una angiogénesis que resulta en la formación de una amplia red de capilares en toda la estructura lútea en formación (Neglia *et al.*, 2012). El CL presenta un elevado ritmo de crecimiento, así, aproximadamente 5 d después de la ovulación el CL alcanza su plena funcionalidad con una producción de $P_4 > 1 \text{ ng mL}^{-1}$ (Calderón *et al.*, 1998; Hernández, 2002).

La P_4 es el principal producto de secreción del CL. Ésta actúa básicamente sobre el aparato reproductor femenino, siendo la responsable de la preparación del

útero para el establecimiento y mantenimiento de la gestación (Adams *et al.*, 2008). Además, en el oviducto estimula la secreción de sustancias que nutren al embrión hasta que éste pueda nutrirse a través de la placenta, evita las concentraciones uterinas y modifica las características del moco cervical volviéndolo más viscoso, entre otras funciones (Grygar *et al.*, 1997).

En los dos tipos de células del CL la P_4 se sintetiza en forma similar, si embargo, las células grandes tienen una producción basal de P_4 independiente del estímulo de la LH (30% de las células lúteas y 70% del total de síntesis de P_4), mientras que la producción de P_4 en las células pequeñas depende totalmente de la acción de la LH (70 % de las células lúteas y 30 % de síntesis de P_4 ; Hernández, 2002; Weems *et al.*, 2006).

El CL tiene su origen, crecimiento, desarrollo y regresión en un tiempo relativamente corto de tiempo (Adams *et al.*, 2008). La regresión lútea es ocasionada por la liberación pulsátil de $PGF_{2\alpha}$ en el endometrio, la cual actúa sobre las células lúteas grandes ocasionando cambios que conducen a su degeneración, ya que únicamente ellas tienen receptores para $PGF_{2\alpha}$, no obstante, las células pequeñas se degeneran como consecuencia de los cambios provocados en las células grandes (Neglia *et al.*, 2012). Si bien no existe una destrucción en el sentido estricto de la palabra, las células lúteas se degeneran gradualmente, siendo el principal efecto la disminución en la síntesis de P_4 para continuar con la posterior degeneración morfológica de la estructura lútea (Weems *et al.*, 2006).

2.2.3 Manipulación hormonal del ciclo estral

La capacidad de manipular el CE en el bovino tiene muchas ventajas, particularmente cuando se lleva a cabo en conjunto con la IA. El objetivo primordial de la investigación acerca de la sincronización de la ovulación y/o estro es el mejor entendimiento de la biología de la reproducción con el fin de desarrollar sistemas prácticos, confiables y aplicables a la industria de la producción bovina, principalmente en la producción vaca-becerro (Lamb *et al.*, 2001; Lamb *et al.*, 2006).

Existen dos formas de manipulación del CE en el ganado de carne, la sincronización de la ovulación y la sincronización del estro, sin que estas dos prácticas tengan el mismo significado, ya que son considerados como dos eventos separados, es decir, bajo condiciones normales ocurre la ovulación aproximadamente 30 h después de la aparición del estro (Geary *et al.*, 1999).

Se han utilizado una gran cantidad de compuestos con actividad luteolítica para acortar y sincronizar el CE, tales como oxitocina (OT), estrógenos (E_2) y prostaglandinas (Lucy *et al.*, 2004). Sin embargo, estos compuestos han presentado ciertas limitaciones, como el hecho de que la OT debe ser inyectada durante varios días consecutivos, o que los E_2 deban ser administrados antes del día 10 del CE (Heersche *et al.*, 1978), por lo que generalmente se han utilizado dos principales grupos de compuestos para la sincronización del estro: $PGF_{2\alpha}$ y sus análogos (luprostiol, clorprostenol, etc.) y progestágenos (norgestomet, acetato de melengestrol, altrenogest, entre otros) los cuales, a través de diferentes mecanismos, actúan imitando o regulando los factores naturales que intervienen en la conducta del estro y la ovulación (Whittier *et al.*, 1986).

El control de la ovulación sin la sincronización de la actividad conductual del estro se ha llevado a cabo mediante el desarrollo de protocolos basados principalmente en el uso del factor liberador de gonadotropinas (GnRH) en combinación con prostaglandinas o E_2 , para dar como resultado protocolos como Co-synch (GnRH y $PGF_{2\alpha}$ con servicio a tiempo fijo), Select-synch (GnRH y $PGF_{2\alpha}$ con servicio a calor detectado), Ovsynch (GnRH y $PGF_{2\alpha}$ con servicio a tiempo fijo), entre otros (Geary *et al.*, 1999). Los progestágenos son formas sintéticas de la P_4 producida por el organismo (por el CL principalmente). Mediante retroalimentación negativa, el progestágeno administrado por las diferentes vías utilizadas reduce las funciones hipofisiarias de producción de la FSH y la LH, teniendo como efecto la desaparición de los signos de estro y la ovulación por parte del FD (Martínez *et al.*, 2002). En numerosos estudios (Colazo *et al.*, 2003; Baruselli *et al.*, 2004; Colazo *et al.*, 2005; Butler *et al.*, 2011) se ha reportado que cuando se administran en conjunto con agentes luteolíticos (prostaglandinas o E_2), los progestágenos constituyen un medio efectivo para la sincronización del estro, teniendo como ventajas el hecho de que la sincronía en la aparición del estro en los animales tratados se presenta en un período mas corto de tiempo que los protocolos basados en prostaglandinas en forma única, que algunas vacas sin actividad ovárica empiezan a ciclar con el uso de progestágenos, además que no producen aborto si, por equivocación, son aplicados en animales gestantes. Sin embargo, los progestágenos presentan menores porcentajes de preñez que los protocolos de sincronización de la ovulación, lo que es debido, probablemente, a los efectos colaterales de la acción de hormonas sintéticas produciendo interferencia con el transporte de gametos, además del aumento en la

duración del diestro natural de los vientres a los cuales se administra el progestágeno al principio de dicha etapa del CE (Odde, 1990). Sin embargo, un manejo eficiente de los animales y la detección de estros en forma adecuada puede minimizar estos inconvenientes, por lo que el uso de esos productos ha sido una alternativa de elección de acuerdo a las condiciones que prevalecen.

Las prostaglandinas son sustancias que se han utilizado ampliamente para regular el ciclo reproductivo de la vaca al producir una regresión del CL presente, el cual es considerado maduro desde el día 6 hasta el 17 ó 18 del CE, por esto, las prostaglandinas no producen su efecto desde el día 0 hasta el 5 del ciclo, por que el CL no es lo suficientemente maduro, y desde el día 17 ó 18 hasta el 21, por que el CL presente no es funcional o bien, ya no existe, siguiendo el comportamiento cíclico del ovario (Lamb *et al.*, 2006). Existen muchos programas de sincronización con prostaglandinas que pueden ser aplicados, sin embargo, comúnmente se han utilizado los programas de una o dos aplicaciones de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Estos programas son de sencilla aplicación, pero únicamente se pueden llevar a cabo en animales que se encuentren ciclando regularmente. En el caso del programa de una sola inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$, es necesaria la detección de CL mediante palpación rectal para obtener una mayor respuesta de las prostaglandinas (85 a 90 % de respuesta al tratamiento). Si no se hace la detección del CL antes de la inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$, se puede esperar 60% de respuesta al tratamiento (estro) durante los 2 a 5 días posteriores a la aplicación (Agarwal *et al.*, 1997).

Dado que la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) induce la producción de otras dos hormonas (gonadotropinas) en la hipófisis, la LH y la FSH, la aplicación de GnRH exógeno en los distintos programas de sincronización intenta imitar o reproducir la conducta natural del hipotálamo e hipófisis, produciendo la ovulación o luteinización (por acción de la LH) a partir de la onda folicular presente e iniciando una nueva onda estimulada previamente por la acción de la FSH, para continuar con la aparición de un CL funcional posterior (Lamb *et al.*, 2006). Existen protocolos que se basan GnRH (usualmente a dosis de 100 µg) y PGF_{2α}, de los cuales se han obtenido resultados favorables tanto en ganado de carne como lechero. Dichos protocolos presentan diferentes características como son el número de manejos necesarios de los animales, inseminación a tiempo fijo (IATF) o a estro detectado, y diferentes fechas de aplicaciones hormonales, por lo que estos factores deben considerarse en cada programa para la elección de alguno de ellos (Larson *et al.*, 2006).

2.3 Actividad reproductiva del ganado Criollo y otras razas nativas

Los estudios de la eficiencia reproductiva del ganado Criollo de rodeo son limitados. Mediante información obtenida a partir de diversas fuentes no formales científicamente (comunicaciones personales, reportes técnicos, etc.), se conoce que el ganado criollo se desarrolla en agostaderos montañosos, principalmente bajo esquemas de empadre continuo durante todo el año. Los intervalos entre partos que se reportan son aproximadamente de 14 o 15 meses y la fertilidad anual es de aproximadamente 50 %. Por ejemplo, el ganado de Lidia, otro ganado Criollo en

México, mantiene una fertilidad anual de 50 a 70 % en condiciones de pastoreo en regiones semiáridas (Gallegos, 1998). El desempeño reproductivo del ganado Criollo en ambientes tan empobrecidos puede indicar que, al igual que otras razas nativas, este ganado se ha adaptado al medio de tal manera que es posible que su sistema neuroendocrino haya sufrido algunas modificaciones por las cuales requiera, para reproducirse, de calificaciones de condición corporal menores que las razas especializadas. En relación a esto, se ha observado que otras razas nativas del mundo han sido criadas desde sus orígenes en condiciones prácticamente silvestres con muy bajos niveles de selección artificial y alimentación, lo que ha derivado en ciertas peculiaridades en su reproducción; así, en vacas de razas nativas como Costeño con cuernos de Colombia (*Bos taurus*) se ha observado cierta estacionalidad reproductiva, dependiente de la disponibilidad de alimento en su entorno, con la presentación de CE acompañados de ovulaciones fértiles principalmente durante la época de lluvias con bajas concentraciones de P_4 y E_2 y CE de duración y fertilidad variables en las temporadas secas (Báez *et al.*, 1997). De la misma forma, las hembras de otras razas bovinas nativas como la Criolla argentina (Giovambattista *et al.*, 2001), Blanco orejinegro (Heano *et al.*, 2004) y Afrikaner (Beffa *et al.*, 2009) muestran mayor actividad reproductiva en ciertas épocas del año, acompañada de altos porcentajes de fertilidad a partir de folículos y CL de menor tamaño que otras razas especializadas en la producción de carne o leche y poca presentación de la permanencia a la mota como signo primario de estro, el cual se caracteriza por tener una duración muy variable.

2.3.1 Manipulación del estro y la ovulación en ganado Criollo

En el ganado Criollo se han llevado a cabo estudios para establecer herramientas eficaces en programas reproductivos, tales como evaluación de tratamientos hormonales y técnicas de sincronización del estro y la ovulación, en donde en términos generales, las vacas no responden favorablemente a los protocolos hormonales de sincronización del estro utilizados comúnmente en ganado productor de carne (Ramírez-Godínez *et al.*, 1998).

En un estudio realizado por Zárate-Martínez *et al.* (2006) con vacas Criollas, se evaluó la sincronización del estro y la tasa de fertilidad después de la IATF. En este estudio se utilizaron dispositivos intravaginales de P₄, P₄ adicional, β -estradiol y PGF_{2 α} , y reportaron que el porcentaje de preñez en las vacas Criollas fue menor (18%) que en las vacas especializadas de razas europeas (42.9%; Martínez *et al.*, 2002). Además, se observó que los animales que resultaron gestantes a la IATF del experimento fueron los que presentaron conducta estral en las últimas 43 h del período de detección de estros. Esto sugiere que la técnica de IATF en el ganado Criollo debe ser ajustada de acuerdo a sus tiempos de ovulación específicos, ya que, según los resultados obtenidos por Zárate (2008), el tiempo de presentación del estro no necesariamente coincide con la etapa de maduración del FD presente, lo que puede resultar en la presentación de estros anovulatorios.

Asimismo, en un estudio realizado por Torres-Simental *et al.* (1997), se observó que las vacas Criollas utilizadas presentaron folículos ováricos persistentes cuando el tratamiento con progestágenos (norgestomet) se inició en cualquiera de las fases del CE, a diferencia de vacas de la raza Hereford.

Los protocolos de sincronización de la ovulación e IATF se desarrollaron en ganado lechero y representan una herramienta validada que ofrece resultados en fertilidad similares a la inseminación en el estro natural, con la ventaja que con estos programas se inseminan a todas las vacas (Meléndez *et al.*, 2006). La aplicación de dichos programas en ganado productor de carne de razas europeas ha aportado resultados alentadores, no obstante, con variación en los resultados (Kasimanickam *et al.*, 2008; Geary *et al.*, 2001). En contraste, la utilización de dichos programas en ganado Cebú (*Bos indicus*) no han aportado resultados favorables. Uno de los factores involucrados es la variación de la dinámica folicular y algunas diferencias en los eventos periovulatorios del ganado *Bos indicus*. Así, la pobre respuesta del ganado Criollo a los protocolos convencionales de sincronización del estro posiblemente obedezca a diferencias en la dinámica folicular y en la relación temporal entre el inicio del estro, pico preovulatorio de la LH y la ovulación.

3. CARACTERÍSTICAS CONDUCTUALES, FOLICULARES Y HORMONALES DEL CICLO ESTRAL EN GANADO CRIOLLO DEL ESTADO DE CHIHUAHUA

3.1 Resumen

El objetivo de este estudio fue describir las características conductuales, ováricas y hormonales del CE del ganado Criollo Chihuahuense y comparar los resultados con información publicada para otras razas. Veintidós vacas sometidas a una sincronización del estro fueron utilizadas para obtener muestras de sangre cada 4 h, con el objeto de determinar su concentración de la LH y cada 24 h para determinar su concentración de P_4 . Los ovarios fueron examinados por ultrasonografía cada 8 h para identificar los folículos dominantes, su ovulación y posteriormente en forma diaria para observar su dinámica ovárica hasta llegar al estro natural subsiguiente. El tiempo del estro a la ovulación fue mayor en el estro sincronizado que en el estro natural ($P < 0.01$) (porque esta comparación es parte del objetivo). El tiempo promedio del pico de la LH a la ovulación fue de 40.5 h. Cuando se compararon ciclos estrales de dos y tres oleadas, el intervalo interovulatorio fue similar ($P > 0.10$), en tanto que la tasa de crecimiento del folículo preovulatorio fue menor en los ciclos de dos oleadas, el tiempo del inicio de la onda ovulatoria a la ovulación fue mayor en ciclos de dos oleadas y el tiempo del estro a la ovulación fue mayor en ciclos de tres oleadas ($P < 0.01$). En general, el volumen promedio del CL fue de 1.3 cm^3 y el promedio de la concentración máxima de P_4 fue de 6.5 ng mL^{-1} . El promedio del pico de la LH fue de 33.5 ng mL^{-1} durante el estro de todas las vacas.

El diámetro de los folículos ovulatorios varió de 8 a 12 mm tanto en ciclos de dos como de tres oleadas. Los resultados sugieren que el tiempo del estro y del pico de la LH a la ovulación son mayores en vacas Criollas que en vacas de otras razas. La información relativa a la tasa de crecimiento, tamaño y edad del folículo ovulatorio puede tener implicaciones en la determinación del tiempo óptimo para la IA y en forma en que se aplique la tecnología reproductiva en el ganado Criollo.

Palabras clave: dinámica ovárica; ovulación; P₄; ganado Criollo.

3.2 Abstract

The objective of this study was to describe the behavioural, ovarian and hormonal characteristics of the estrous cycle of Criollo cattle and to compare these results with data published for other breeds. Twenty two cycling cows subjected to estrus synchronization were used to take blood samples every 4 h to determine LH and every 24 h to determine progesterone concentrations. Ovaries were ultrasounded every 8 h to determine dominant follicles and ovulation and daily afterwards to observe ovarian dynamics until subsequent estrus. Time from estrus to ovulation was higher in synchronized than in spontaneous estrus ($P < 0.01$). Time from LH surge to ovulation was 40.5 h. When compared two- and three-wave cycles, interovulatory intervals were similar ($P > 0.10$), growth rate of the preovulatory follicle was lower in two-wave cycles, time from onset of ovulatory wave to ovulation was higher in cycles with two waves and time from estrus to ovulation was higher in three-wave cycles ($P < 0.01$). The overall corpus luteum volume averaged 1.3 cm^3 and the overall progesterone level peaked at an average of 6.5 ng mL^{-1} . LH peak averaged 33.5 ng

mL⁻¹ during estrus in all cows. Ovulatory follicle diameter ranged from 8 to 12 mm in either two- or three-wave cycles. Results suggest that overall times from estrus and LH peak to ovulation are longer in Criollo cows than those in other breeds. This, along with information about growth rate, size and age of ovulatory follicles may have implications for reviewing the optimum time for AI and how reproductive technologies are applied to Criollo cattle.

Keywords: ovarian dynamics; ovulation; progesterone; Criollo cattle.

3.3 Introducción

Las razas nativas de ganado bovino han sido reconocidas por mucho tiempo como poseedoras de características valiosas, tales como la resistencia a enfermedades y la adaptación a condiciones ambientales adversas. Tal es el caso del ganado Criollo (también conocido como Corriente), originario de Chihuahua, México, el cual tuvo su origen en las razas traídas por los españoles a América durante la colonización, como la Retinta Andaluz, Rubia Gallega, Murcia Sanabranesa y otras entre las que se incluye una serie de líneas genéticas naturales *Bos taurus*. Estas razas evolucionaron durante el tiempo para conformar grupos raciales definidos (Ríos and Rodríguez, 1998). Este ganado se utiliza principalmente para las actividades deportivas del rodeo, debido a su tamaño pequeño, fuerza física, agilidad y longevidad (Russell et al., 2000) y ha sido criado durante siglos por los nativos en la sierra de Chihuahua en condiciones adversas bajo las cuales puede vivir y reproducirse mientras otras razas de ganado no.

En la actualidad, el ganado Criollo se encuentra principalmente en las regiones montañosas del estado, bajo condiciones de clima sub húmedo templado (temperatura que varía de -15 a 32°C) con una precipitación media anual de 540 mm, alimentándose principalmente de plantas forrajeras tales como *Quercus depressipes*, *Arctospahylos pungens* entre otras. Sin embargo, en años recientes, algunos criadores se han establecido en regiones desérticas, en las que el ganado Criollo puede encontrarse bajo condiciones climáticas extremadamente áridas, con una temperatura media de 17°C, que varía entre -7 y 45°C con una precipitación media anual de 225 mm en un período medio de 58 d, alimentándose de arbustos forrajeros nativos como *Larrea tridentata*, *Prosopis spp.*, *Yucca spp.* y otros (INEGI, 2008; Ríos, 2010).

El mejoramiento de las características físicas y productivas puede ser obtenido utilizando la selección genética y las tecnologías reproductivas tales como la IA y TE. El uso exitoso de estas tecnologías depende del entendimiento del CE normal. Poco ha sido publicado acerca de las características del CE en el ganado Criollo del estado de Chihuahua; no obstante, se ha reportado que este tipo de ganado no se comporta durante el estro como el de otras razas, ya que presenta un alto porcentaje de estros silenciosos y que la mayoría de las vacas Criollas que resultan gestantes a la IA son aquellas que tardaron más en mostrar signos de estro después del tratamiento de sincronización (Zárate-Martínez *et al.*, 2006). Torres *et al.* (1997) observaron que las vacas Criollas aparentemente presentaron un mayor número de folículos persistentes que no ovularon después de la sincronización del estro. En otros estudios se ha realizado la sincronización experimental del estro y la IA programada de vacas Criollas, en un intento de obtener porcentajes de preñez

similares a aquellos obtenidos en el ganado lechero y productor de carne (Torres *et al.*, 1997; Zárate-Martínez *et al.*, 2010); sin embargo, la ovulación y la tasa de preñez a partir de tratamientos que sincronizan el estro de las vacas Criollas generalmente son menores a las obtenidas en otras razas *Bos Taurus* bajo los mismos protocolos, aunque las comparaciones directas en un mismo estudio son poco comunes (Ramírez-Godínez *et al.*, 1998).

En el presente estudio, la hipótesis planteada es que las características conductuales, foliculares y hormonales del CE del ganado Criollo difieren de los valores publicados previamente para el ganado *Bos Taurus* y *Bos Indicus*. Lo anterior puede contribuir a la reducida fertilidad observada en el ganado Criollo cuando se utilizan tecnologías reproductivas aplicadas en la misma forma que en otras razas *Bos Taurus* y *Bos Indicus*. El objetivo de este estudio fue describir las características conductuales, ováricas y hormonales del CE de vacas Criollas y comparar los resultados con valores publicados previamente para ganado de otras razas europeas y cebuinas.

3.4 Materiales y métodos

3.4.1 Animales y Manejo

El presente estudio se realizó con 30 vacas Criollas, nacidas y criadas en la misma explotación bajo un medio ambiente desértico en Ahumada, Chihuahua, México (latitud 30° 29' N, longitud 106° 28' W), durante el invierno/primavera (marzo). Se utilizaron vacas de 1 a 3 partos y con al menos 7 meses sin gestación o amamantamiento, y ciclicidad ovárica comprobada. El peso de las vacas varió de 357 a 465 kg (media 384 ± 23.9 kg), y una condición corporal entre 4 o 5 (media $4.4 \pm$

0.5) en donde 0 = emaciada, 9 = obesa, según la clasificación de Richards *et al.* (1986). Durante el experimento, las vacas permanecieron en un corral con sombra, en donde fueron alimentadas con heno de alfalfa, minerales y agua fresca a libre acceso. La ciclicidad ovárica fue determinada antes del inicio del experimento mediante la detección de un CL por vía transrectal utilizando un aparato de ultrasonografía marca Medison[®], modelo Sonovet 600 con un transductor de arreglo lineal de 7.5 MHz (Medison Inc., Ciprés, CA). Se estudió un CE completo mediante el registro de las concentraciones hormonales y de los cambios en las estructuras ováricas entre dos estros y ovulaciones.

3.4.2 Sincronización y detección del estro

El estro se sincronizó con dos inyecciones IM del análogo sintético de PGF_{2α} dinoprost Trometamina (25 mg, 5 mL de Lutalyse; Pharmacia & Upjohn; Kalamazoo, MI) aplicadas a intervalo de 11 d. Después de la segunda inyección de PGF_{2α} las vacas fueron observadas continuamente por uno de cuatro técnicos entrenados para detectar visualmente el estro y posteriormente cada 4 h durante 5 d para detectar el estro espontáneo (de presentación natural) subsiguiente. La hora de inicio de los estros sincronizado y natural fue determinada cuando una vaca permaneció pasiva y permitió la primera monta de otras vacas durante al menos 3 s. La hora del fin del estro fue determinado 2 h después de la última observación en la cual la vaca permitió la monta, calculando así la duración de la presentación de conducta estral. En el presente estudio, solo se utilizaron las vacas que mostraron estro sincronizado y ovulación después del tratamiento hormonal.

3.4.3 Ultrasonografía

A partir de la detección del estro sincronizado, ambos ovarios de cada vaca fueron monitoreados mediante ultrasonografía cada 8 h para identificar el FD preovulatorio y el tiempo de su ovulación. Un FD fue considerado como tal cuando midió ≥ 8.5 mm de diámetro y aumentó después de la etapa de selección, la cual fue determinada durante la observación ultrasonográfica en la cual los folículos mas pequeños (subordinados) disminuyeron su tamaño debido al proceso de atresia (Sartori y Barros, 2011). La ovulación fue determinada cuando el FD detectado previamente desapareció entre una observación ultrasonográfica y otra. El tiempo de ocurrencia de la ovulación fue determinado 4 h después de la última observación en la cual un FD apareció (Lucy *et al.*, 1991), calculando así el intervalo transcurrido desde el inicio del estro a la ovulación. El día de la ovulación fue definido como el d 0 del CE, y la duración del CE fue considerada como el intervalo de tiempo transcurrido entre dos ovulaciones sucesivas (Peter *et al.*, 2009; Murphy *et al.*, 1990).

Después de la ovulación, los ovarios fueron monitoreados diariamente para determinar el desarrollo folicular mediante la caracterización del número y la duración de las ondas foliculares en los ciclos estrales (Lucy *et al.*, 1991), los cuales fueron clasificados como de dos o tres ondas foliculares. Durante cada ultrasonografía, el número y diámetro de los folículos ≥ 3 mm fueron registrados como parte de una cohorte, la cual fue definida como un grupo de folículos de 3 a 4 mm de diámetro que constituyó una onda folicular desde su primera detección (Peter *et al.*, 2009). El inicio de una onda folicular se determinó cuando los folículos de una cohorte aumentaron su diámetro de una observación a otra. El final de una onda folicular fue determinado cuando el diámetro de un FD empezó a disminuir debido al proceso de regresión en

las ondas foliculares anovulatorias o cuando éste ovuló en las ondas foliculares ovulatorias (Jaiswal *et al.*, 2009).

Durante las observaciones ultrasonográficas diarias se llevó a cabo la búsqueda de CL en ambos ovarios. La presencia de un CL fue determinada cuando se observó una estructura grisácea, ecogénica y claramente delimitada en un ovario (Hanzen *et al.*, 2000).

El diámetro de los folículos y de los CL fue medido en el eje transversal de la estructura semi-circular. El diámetro del CL (D) fue utilizado para calcular el volumen lúteo total. El radio (R) fue calculado con la fórmula $R = D/2$, y el volumen lúteo total (V) fue calculado con la fórmula $V = 4/3 \times \pi \times R^3$, siguiendo la metodología de Vasconcelos *et al.* (2001).

Al inicio del estro espontáneo de cada vaca, ambos ovarios fueron examinados con ultrasonografía una vez más cada 8 h para determinar el tiempo de la ovulación de la misma forma que en el estro sincronizado previo. Durante el presente estudio, todos los exámenes ultrasonográficos fueron realizados por el mismo operador.

3.4.4 Toma de muestras de sangre y análisis hormonales

Una vez que se detectó el estro sincronizado, se tomaron muestras de sangre cada 4 h mediante un catéter intravenoso previamente colocado en la vena yugular, según la técnica descrita por Zalkovic *et al.* (2001), hasta que se detectó la ovulación mediante ultrasonografía.

Las muestras de sangre fueron transportadas en hielo inmediatamente al laboratorio y centrifugadas a $3,000 \times g$ durante 30 min a 4°C. El suero resultante fue

colectado y almacenado en micro tubos con capacidad de 2 mL a -20°C hasta que se realizó el análisis de radioinmunoensayo, utilizando anti-LH bovina durante un período de incubación de 2 h a 37°C y anti- γ -globulin, seguida de un período de incubación de 30 min a 22°C. Todos los ensayos para la detección de la LH se llevaron a cabo en solución 0.05 M buferada de fosfato con un pH de 7.4 que contenía seroalbúmina bovina al 0.1% (B.D.H. Chemicals, Toronto, Canada) y 0.1 de azida sódica. La LH fue yodada (LER-1374^a) utilizando 2 μ g de LH, 50 mL de solución buferada de fosfato 0.5M, 80 μ L de 125 I, 5 μ L de cloramina T (a 5 mg / mL), 25 μ L de metabisulfito de sodio (a 2.4 mg / mL; Fischer Scientific, Fair Lawn, NJ, U.S.A.) y 250 μ L de yoduro de potasio (a 10 mg mL⁻¹; Anachemia Chemicals, Toronto, Canadá). La LH yodada posteriormente fue separada del yodo libre mediante cromatografía (Bernard *et al.*, 1983). Los valores de concentración de la curva estándar establecida fueron de 0.1, 1, 10 y 100 ng mL⁻¹. La sensibilidad del ensayo fue de 0.1 ng mL⁻¹, con coeficientes de variación Inter-ensayo e intra-ensayo de 9.3 y 10.2 %, respectivamente. Estas muestras fueron utilizadas para determinar las concentraciones séricas de la LH, así como el tiempo de ocurrencia y concentración de la LH durante su oleada. Los valores de concentración detectables bajo, medio y alto durante el radioinmunoensayo fueron 0.4, 11.0 y 52.5 ng mL⁻¹, con coeficientes de variación de 9.5, 10.1 y 10.9, respectivamente.

Posterior a la ovulación del estro sincronizado se colectaron muestras de sangre cada 24 h para determinar las concentraciones séricas de P₄ hasta la subsiguiente ovulación. Las muestras fueron obtenidas mediante punción de la vena yugular, transportadas en hielo inmediatamente al laboratorio y centrifugadas a 3,000 x g durante 30 min a 4°C. El suero resultante fue colectado y almacenado a -20° C

hasta que se realizó el análisis de radioinmunoensayo utilizando un kit comercial (Siemens Health Care Diagnostics; Los Angeles, CA), el cual utiliza un anticuerpo contra P_4 que recubre los tubos incluidos en el kit y 125 I-progesterona como rastreador (Schneider and Hallford, 1996). La sensibilidad del ensayo fue de 0.1 ng mL^{-1} ; los coeficientes de variación Inter-ensayo e intra-ensayo fueron de 2.6 y 3.7 %, respectivamente. Los valores de concentración detectables bajo, medio y alto durante el radioinmunoensayo fueron de 0.1, 6.2 y 15 ng mL^{-1} , con coeficientes de variación de 3.5, 2.6 y 2.9, respectivamente.

Un CL fue considerado como funcional cuando las concentraciones de P_4 fueron $>1 \text{ ng mL}^{-1}$, por lo tanto, la duración de la fase lútea del ciclo fue determinada como el período de tiempo durante el cual las concentraciones de P_4 fueron $\geq 1 \text{ ng mL}^{-1}$ (Calderón *et al.*, 1998). Por el contrario, la duración de la fase folicular del CE fue determinada como el período de tiempo durante el cual las concentraciones séricas de P_4 fueron $< 1 \text{ ng mL}^{-1}$ (Peter *et al.*, 2009). Aunque se detectaron varias disminuciones en la concentración sérica de P_4 durante la fase lútea, el inicio de la regresión lútea en cada vaca se determinó cuando las concentraciones séricas de P_4 mostraron un decremento significativo y el volumen del CL empezó a disminuir progresivamente entre observaciones ultrasonográficas. La duración del proceso de regresión lútea fue definida como el período entre su inicio y la subsiguiente detección de concentraciones de $P_4 < 1 \text{ ng mL}^{-1}$ de suero (Niswender *et al.*, 2000; Peter *et al.*, 2009).

3.4.5 Análisis estadístico

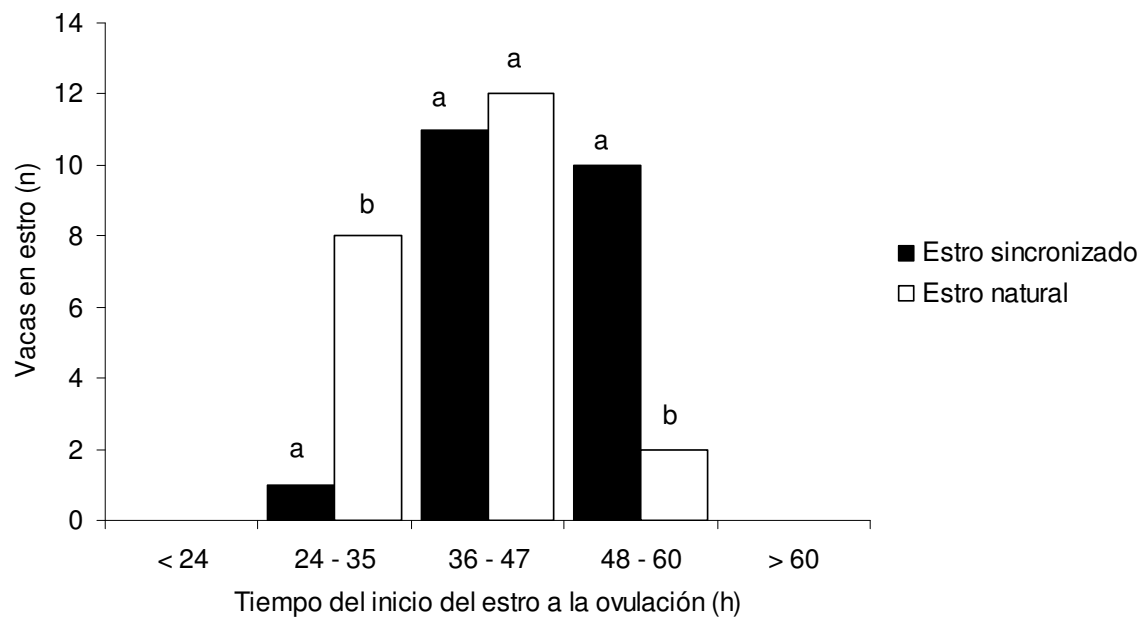
El análisis de las características del CE se llevó a cabo calculando datos y presentándolos en forma de estadística descriptiva utilizando el PROC MEANS del paquete estadístico SAS; los resultados descriptivos se presentan como medias y desviaciones estándar. El inicio de la oleada preovulatoria de la LH fue considerado cuando las concentraciones séricas de la hormona alcanzaron su máximo nivel, el cual fue definido como el valor ≥ 2 desviaciones estándar (DE) por encima de la concentración media mínima. Por el contrario, el fin de la oleada preovulatoria se definió como el valor ≥ 2 DE por debajo de la concentración media mínima. El mismo procedimiento se llevó a cabo para identificar un descenso significativo en las concentraciones séricas de P_4 que marcó el inicio de la regresión lútea (Adams *et al.*, 1994). Se realizó una comparación entre la proporción de ciclos con dos y tres ondas foliculares con una prueba de X^2 utilizando el PROC LOGISTIC del paquete estadístico SAS. Asimismo, las comparaciones en la dinámica folicular de la onda ovulatoria en ciclos con dos y tres ondas foliculares, así como el tiempo promedio del inicio del estro sincronizado o natural a la ovulación fueron realizadas bajo un diseño completamente al azar utilizando el PROC GLM del paquete estadístico SAS. El intervalo de tiempo transcurrido del inicio del estro a la ovulación en el estro sincronizado y natural fue dividido en 5 clases (< 24, 25-35, 36-47, 48-60 y > 60 h). En cada intervalo de tiempo la proporción de vacas que ovuló después del estro sincronizado o natural fue comparada mediante una prueba de X^2 utilizando el PROC LOGISTIC del paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc. Cary, NC).

3.5 Resultados

En el presente estudio, de las 30 vacas utilizadas, 22 fueron detectadas en estro y ovularon después de la segunda inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (73.3 % de respuesta de estro). Trece vacas ovularon en el ovario derecho y 9 del izquierdo después del estro sincronizado, mientras que 14 vacas ovularon del ovario derecho y 8 del izquierdo después del estro natural. El tiempo promedio del inicio del estro sincronizado a la ovulación fue mayor que el tiempo del inicio del estro natural a la ovulación (46.2 ± 8.2 y 37.6 ± 6.0 h, respectivamente; $P < 0.01$). Las vacas que presentaron estro sincronizado también lo hicieron en el ciclo siguiente. La distribución y comparación del tiempo transcurrido del inicio del estro a la ovulación en el estro sincronizado y natural en los diferentes intervalos de tiempo analizados se muestran en la Gráfica 1.

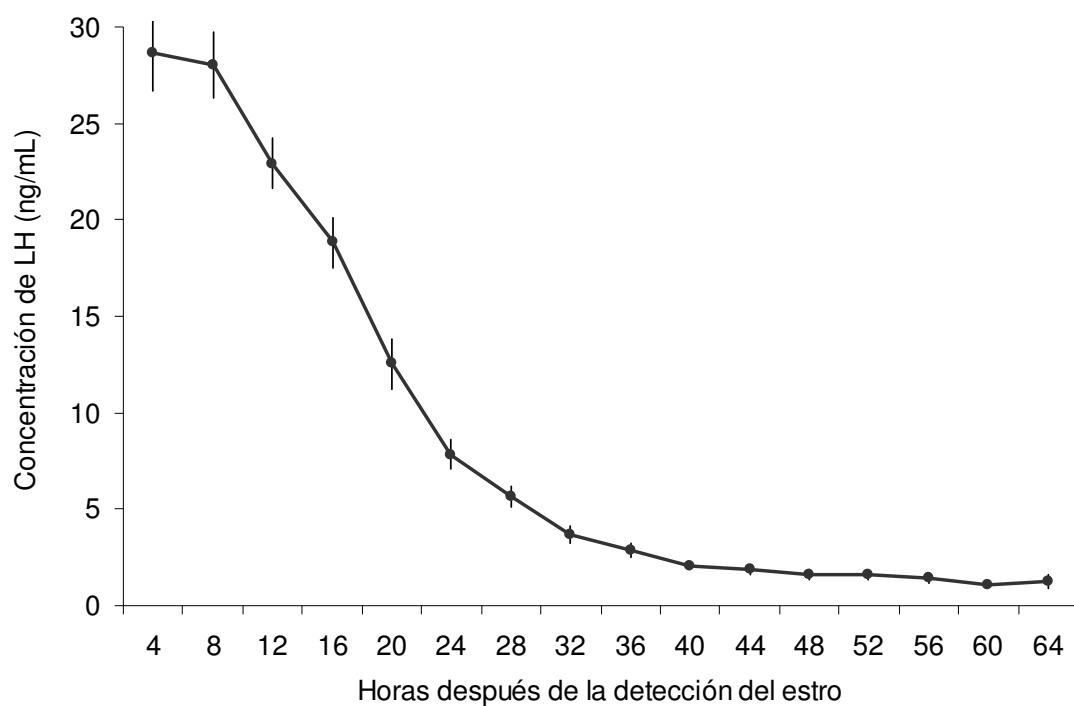
Ninguna vaca ovuló < 24 y > 60 h después del inicio del estro sincronizado o natural. En el intervalo 24 a 35 h se encontró una mayor proporción de vacas que ovularon después del estro natural (8 de 22 vacas) que en el mismo intervalo después del estro sincronizado (1 de 22; $P < 0.01$). Se observaron proporciones similares de vacas que ovularon en ambos tipos de estro durante el intervalo de 36 a 47 h (12 de 22 en el estro natural y 11 de 22 en el estro sincronizado; $P > 0.10$), así como una menor proporción de ovulaciones durante el intervalo de 48 a 60 h después del estro natural (2 vacas) en comparación con el estro sincronizado (10 vacas; $P < 0.01$). Las concentraciones séricas totales de la LH se encontraron entre 0.4 y 47.8 ng mL^{-1} , mientras que las concentraciones medias variaron entre 1.3 y 28.6 ng mL^{-1} durante el tiempo de muestreo en el estro sincronizado (Gráfica 2).

Los niveles de la oleada preovulatoria de la LH fueron detectados durante el



Gráfica 1. Distribución de intervalos de tiempo (h) del inicio del estro a la ovulación en estro sincronizado o natural de vacas Criollas. Literales diferentes en cada intervalo indican diferencia estadística ($P < 0.01$).

El estro sincronizado se obtuvo con dos inyecciones de $\text{PGF}_{2\alpha}$ a intervalo de 11 d.



Gráfica 2. Concentraciones séricas de la LH del estro sincronizado con PGF_{2α} en vacas Criollas (medias ± E.E.).

estro sincronizado y se encontraron entre los 19.6 y 47.8 ng mL⁻¹, con un promedio de 33.5 ± 7.6 ng mL⁻¹. Los resultados de la oleada preovulatoria de la LH después del estro sincronizado con PGF_{2α} se muestran en el Cuadro 1.

De las 22 vacas detectadas en estro después del tratamiento hormonal, 5 tuvieron tres ondas foliculares en su CE (22.7 %), 17 tuvieron dos ondas (77.3 %) y ninguna tuvo ciclos con cuatro ondas foliculares. Los ciclos que tuvieron dos ondas foliculares tuvieron una duración media de 21.1±1.4 d (rango 19 a 23 d), similar a la de los ciclos de tres ondas, (media 21.4 ± 0.5; rango 21 a 22 d; P > 0.10). Los resultados de la dinámica folicular durante la oleada ovulatoria en los ciclos de dos y tres oleadas con la presencia de estro natural se muestran en el Cuadro 2.

La onda folicular ovulatoria inició mas temprano en los ciclos de dos ondas foliculares que en los ciclos de tres ondas (días 11.2 y 14.8 del CE, respectivamente; P < 0.01), no obstante, el número de folículos al inicio de la oleada, el diámetro del folículo preovulatorio en la etapa de selección y el diámetro máximo alcanzado por el folículo preovulatorio fueron similares (P > 0.05) para ambos patrones foliculares. Los folículos ovulatorios tuvieron menor (P < 0.01) tasa de crecimiento en los ciclos de dos oleadas que en los ciclos de tres oleadas. La duración de la oleada ovulatoria (el tiempo transcurrido desde el inicio de la oleada hasta la ovulación) fue mayor (P < 0.01) en los ciclos de dos oleadas, mientras que el tiempo transcurrido desde el inicio del estro a la ovulación fue mayor (P < 0.05) en los ciclos de tres oleadas.

El comportamiento del diámetro de los folículos dominantes, concentraciones séricas de P₄ y el inicio de la regresión lútea en ciclos de dos y tres ondas foliculares

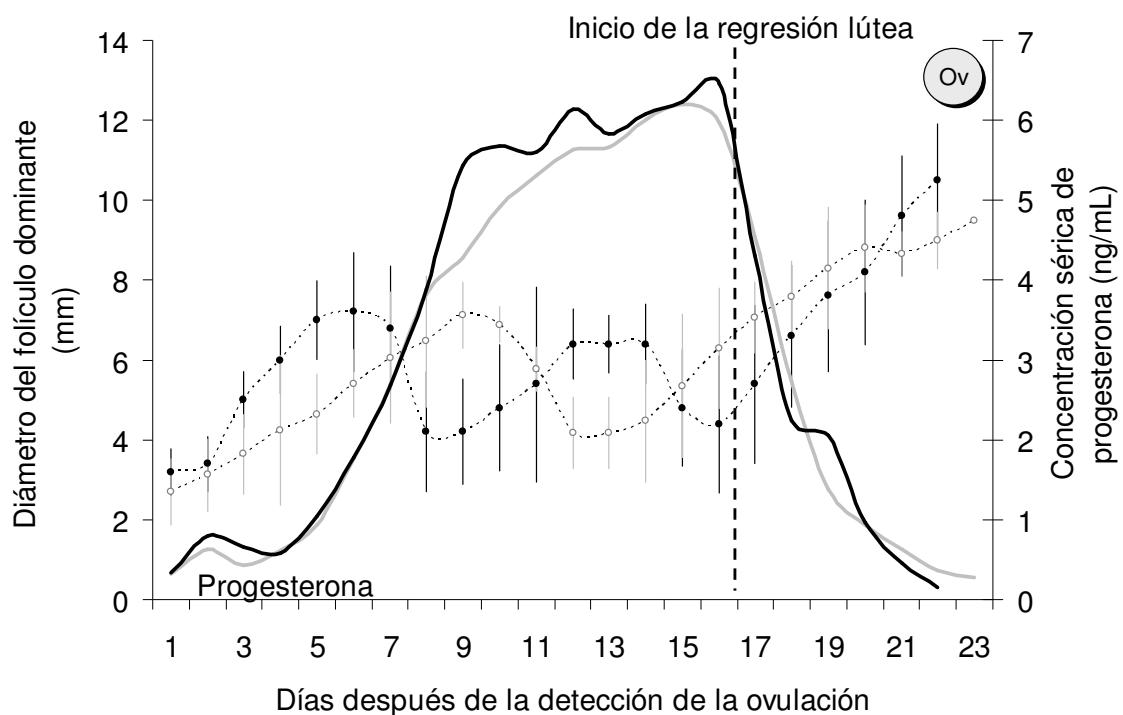
Cuadro 1. Comportamiento de la oleada preovulatoria de la LH después del estro sincronizado con $\text{PGF}_{2\alpha}$ en vacas Criollas.

	Media	E. E.	Rango
Tiempo del inicio del estro al pico de la LH (h)	3.6	0.4	2 a 6
Tiempo del inicio del estro al fin de la onda preovulatoria de LH (h)	18.7	0.6	16 a 24
Tiempo del pico de la LH a la ovulación (h)	40.5	1.5	24 a 52

Cuadro 2. Comparación de la dinámica folicular de la onda ovulatoria en ciclos de dos y tres ondas foliculares en vacas Criollas.

	Número de ondas foliculares en el ciclo				<i>P</i>
	2		3		
	Media±EE	Rango	Media±EE	Rango	
Día del ciclo en el que inició la onda	11.2±0.3	10-12	14.8±0.4	14 - 16	<0.001
Folículos al inicio de la onda (n)	7.5±0.6	6-11	6.8±0.5	6 - 12	0.243
Diámetro del folículo preovulatorio en selección (mm)	5.2±0.3	4-6	4.6±0.1	4 - 6	0.086
Diámetro máximo del folículo preovulatorio (mm)	10.0±0.3	8-12	10.1±0.4	9 - 11	0.906
Tasa de crecimiento del folículo preovulatorio (mm d ⁻¹)	0.6±0.2	0.4-1.0	0.9±0.1	0.6 - 1.3	<0.001
Tiempo del inicio de la onda a la ovulación (d)	10.8±0.4	9-12	7.6±0.2	7 - 8	<0.001
Tiempo del inicio del estro a la ovulación (h)	36.2±2.9	28-48	42.4±2.0	36 - 48	0.040

se muestran en la Gráfica 3. Asimismo, los resultados descriptivos del CE, desarrollo folicular, concentración de P_4 y desarrollo del CL se presentan en el Cuadro 3.



Gráfica 3. Diámetro del folículo dominante (media $\pm$ D.E.) y concentraciones séricas de progesterona (ng mL^{-1}) entre dos ovulaciones consecutivas en ciclos estrales de dos ($--\circ--$, $---$; respectivamente) y tres ondas foliculares ($--\bullet--$, $---$; respectivamente). El folículo dominante presente al inicio de la regresión lútea ($-----$) se convierte en ovulatorio en ambos tipos de ciclos.

Cuadro 3. Características generales del ciclo estral en vacas Criollas.

	Media	EE	Rango
Ciclo estral			
Número de ondas foliculares en el ciclo (n)	2.2	0.4	2 a 3
Duración del ciclo (d)	21.1	1.2	19 a 23
Duración de la fase folicular (d)	7.4	0.8	6 a 9
Porcentaje del ciclo representado por la fase folicular	34.9	3.5	30 a 42.9
Duración de la fase lútea (d)	13.7	1.2	12 a 16
Porcentaje del ciclo representado por la fase lútea	65.1	3.5	57.1 a 70
Duración del estro espontáneo (h)	15.3	5.6	6 a 26
Tiempo del estro espontáneo a la ovulación (h)	46.2	8.2	28 a 60
Desarrollo del folículo ovulatorio			
Diámetro del folículo preovulatorio en la selección (mm)	4.7	0.7	4 a 6
Diámetro máximo alcanzado (mm)	10.0	1.0	8 a 12
Tasa de crecimiento (mm d ⁻¹)	0.6	0.2	0.4 a 1.3
Edad del folículo ovulatorio a la ovulación (d)	10.1	1.6	8 a 12
Número de folículos en la onda ovulatoria	8.5	1.7	6 a 12
Secreción de progesterona			
Concentración máxima durante la fase lútea (ng mL ⁻¹)	6.5	0.6	5.6 a 7.8
Día del ciclo en que se alcanzó la máxima concentración	15.4	1.5	12 a 17
Día del ciclo del inicio de la regresión lútea	17.0	1.2	13 a 19
Desarrollo del cuerpo lúteo			
Diámetro máximo del CL (mm)	13.7	1.8	11 a 18
Volumen máximo del CL (cm ³)	1.3	0.57	0.6 a 3.5
Día del ciclo con el volumen máximo del CL	15.9	1.5	10 a 17
Duración del proceso de regresión lútea (d)	3.5	1.5	1 a 7

3.6 Discusión

Las vacas criollas utilizadas en este estudio tuvieron ciclos con dos y tres ondas foliculares. Esto es similar a lo que ha sido reportado en razas europeas o en ganado Cebú, en donde predominan los ciclos de dos y tres ondas, mientras que los ciclos de una o cuatro ondas se observan raramente (Figuereido *et al.*, 1997; Ginther *et al.*, 1989; Townson *et al.*, 2002). La mayor proporción de vacas que exhibieron ciclos con dos ondas foliculares coincide con reportes previos (Figuereido *et al.*, 1997; Townson *et al.*, 2002), pero difiere de otros (Savio *et al.*, 1988). Estos resultados divergentes indican que las diferentes poblaciones de vacas difieren en cuanto a las proporciones de un patrón de desarrollo folicular dado (Ginther *et al.*, 1989), pero los factores genéticos y ambientales que afectan el número de ondas foliculares no se ha podido explicar completamente. La duración similar de los ciclos de dos y tres ondas en las vacas de este estudio es contrario a lo reportado por Ginther *et al.* (1989) y Adams *et al.* (2008), quienes señalan que los ciclos de dos ondas son mas cortos que los de tres ondas (19-20 y 22-23 d, respectivamente), debido a la regresión mas temprana del CL en los ciclos de dos ondas. Los datos obtenidos en el presente estudio muestran resultados diferentes que pueden sugerir que los ciclos estrales mas cortos no necesariamente se relacionan con dos ondas foliculares, sino con una fase lútea mas corta, cuyo fin (inicio de la regresión lútea) estimula a un FD a convertirse en ovulatorio en ciclos de dos o tres oleadas.

La duración general del CE encontrada en este estudio es similar a la del ganado productor de carne o leche, sin embargo, la fase folicular aparentemente es mas larga y la fase lútea mas corta (20% y 80% del ciclo, respectivamente; Meter *et*

al., 2009), aunque la frecuencia de las observaciones pueden haber tenido algún efecto sobre estos resultados. Está bien establecido que la fase folicular del ciclo se caracteriza por un cambio de la dominancia hormonal de P_4 a estradiol, como resultado de la previa regresión del tejido lúteo; por lo tanto, los resultados obtenidos pueden indicar que las vacas Criollas requieren de más tiempo para lograr dicho cambio en las concentraciones hormonales, dado que la tasa de crecimiento de los folículos dominantes de las vacas de este estudio son menores que las reportadas en ganado Cebú (0.92 mm d^{-1} ; Figueredo, *et al.*, 1997) y otras razas europeas que pueden ser de hasta 2.2 mm d^{-1} en vacas (Murphy *et al.*, 1990) y hasta 5.5 mm d^{-1} en vaquillas (Savio *et al.*, 1988).

En vacas Criollas, la menor tasa de crecimiento y el mayor tiempo que requiere un FD para alcanzar su capacidad ovulatoria después de la luteólisis, en comparación con vacas de otras razas, pueden tener implicaciones en el tiempo de la IA después de los tratamientos de sincronización. Lo anterior podría indicar que para optimizar la fertilidad obtenida en las vacas Criollas, los tiempos de inseminación pueden diferir a los utilizados en otras razas. Posiblemente la determinación del tiempo óptimo de inseminación en las vacas Criollas requiere el estudio de los efectos de los tratamientos aplicados en ellas en términos objetivos que incluyan condiciones ambientales, condición corporal, métodos de sincronización e inseminación, etc., en lugar de extrapolarlos directamente de otras razas; no obstante, en este punto es factible hacer sugerencias acerca del tiempo de inseminación, el cual puede ser de aproximadamente 28 h después del inicio del estro.

El promedio del diámetro de los folículos ovulatorios es considerablemente menor que lo que se ha reportado para los ciclos de dos y tres oleadas de otras razas *Bos taurus* (17.2 y 16.0 mm, respectivamente; Townson *et al.*, 2002), lo cual indica que las vacas Criollas de este estudio alcanzaron el estado de dominancia con un diámetro menor a lo que ha sido reportado en animales *Bos taurus* (Holstein; Bleach *et al.*, 2004) y *Bos indicus* (Nellore; Sartori *et al.*, 2001; Sartori y Barros, 2011).

A menudo se asume que un CL grande producirá grandes cantidades y generará concentraciones séricas de P_4 mas elevadas (Mann, 2009). En bovinos, la concentración sérica de P_4 aumenta de $< 1 \text{ ng mL}^{-1}$ en el d 3 después de la ovulación a aproximadamente 3 mg mL^{-1} alrededor del d 6, con un pico entre los d 10 y 14 después de la ovulación, que llega a alcanzar $> 4 \text{ ng mL}^{-1}$ (Adams *et al.*, 2008). Las vacas del presente estudio mostraron concentraciones similares de P_4 , sin embargo, el diámetro y el volumen del CL fueron menores a aquellos reportados en otras razas (7.5 cm^3 ; Grygar *et al.*, 1997; Kastelic *et al.*, 1990). Si bien las diferencias en la composición de la dieta, los procesos metabólicos y los análisis de laboratorio utilizados deben ser considerados como factores que contribuyen a las concentraciones séricas de P_4 , los resultados obtenidos en este estudio pueden indicar que, en vacas Criollas, las concentraciones medias de P_4 durante el CE aparentemente son similares a las de otras razas, con la presencia de un CL de menor tamaño.

Uno de los objetivos del presente estudio fue determinar el tiempo transcurrido desde el inicio del estro y el pico de la LH a la ovulación. En este estudio la oleada y el pico de la LH fueron detectados durante la presentación de la conducta estral

sincronizada, lo cual coincide con otros autores (Adams *et al.*, 1994). No obstante, los tiempos transcurridos del inicio del estro y del pico de la LH a la ovulación observados en este estudio difieren a lo reportado por otros autores, quienes llevaron a cabo sus estudios tanto en bovinos productores de carne y leche y encontraron que el tiempo del inicio del estro a la ovulación fue en promedio de 32.9 h (Wiltbank *et al.*, 1967) o de 20 a 30 h en vacas de razas “del oeste” (Roelofs *et al.*, 2010; Peter *et al.*, 2009), así como en otras especies del género Bos (*Bos frontalis*) con 24.4 h en hembras multíparas (Mondal *et al.*, 2006). En estudios anteriores se han reportado tiempos similares de ovulación entre un estro inducido con PGF_{2α} y un estro natural (Cárdenas *et al.*, 1991; Pinheiro *et al.*, 1998). Las diferencias encontradas en este estudio en términos del tiempo del inicio del estro sincronizado o natural a la ovulación pueden atribuirse a razones de tipo fisiológico, como una regresión incompleta del CL después de la administración de PGF_{2α} o la posible interferencia del protocolo hormonal con la dinámica folicular (Drillich *et al.*, 2000). Adicionalmente, es importante hacer notar que un aumento en el intervalo de tiempo entre las aplicaciones de PGF_{2α} (*i. e.* 14 d) puede conducir a un aumento en la respuesta de luteólisis (Folman *et al.*, 1990), sin embargo, es posible que esta variación haya sido detectada debido al período de tiempo transcurrido entre las detecciones ultrasonográficas. Para estudios posteriores se sugiere que dichas observaciones se realicen a intervalos más cortos, considerando el posible efecto del estrés por el manejo de los animales sobre la ovulación. Es importante hacer notar que otros estudios mencionan el uso de la regla a.m. – p.m. como una herramienta eficiente para la IA y, mediante el uso de sistemas electrónicos de detección del estro como podómetros, los porcentajes más altos de preñez se obtienen cuando se insemina de

5 a 17 h después del incremento de la actividad (Roelofs *et al.*, 2010; Maatje *et al.*, 1997). Durante años, la regla a.m. – p.m. ha sido considerada como una guía para que el productor insemine las vacas detectadas en estro. Esta técnica puede no ser de tanta utilidad en el ganado Criollo como en las otras razas, dado que el tiempo de ovulación y la tasa de crecimiento folicular pueden ser diferentes, por lo cual los espermatozoides inseminados de esta forma pueden no ser viables para la fertilización, dado que el período de vida de los espermatozoides en el aparato reproductor de la vaca es, de 24 a 48 h si el semen es fresco y de 12 a 24 h si es descongelado, mientras que el período de vida del ovocito bovino es de aproximadamente 6 a 12 h (Roelofs *et al.*, 2003).

Los resultados obtenidos en este experimento, en relación con la tasa de crecimiento y el diámetro alcanzado por el folículo preovulatorio no coinciden con otros autores, quienes reportan que los folículos ovulatorios en ciclos de tres oleadas son mas pequeños y tienen tasa de crecimiento similar en comparación con los de ciclos de dos oleadas (Townson *et al.*, 2002). A este respecto es muy importante considerar que las técnicas de manejo tales como la intensidad de ordeño, alimentación y empadre, así como las condiciones ambientales son factores de influencia sobre el desarrollo del folículo ovulatorio.

Además del tiempo transcurrido del estro a la ovulación, los datos obtenidos en este estudio relacionados con el intervalo mas corto en los ciclos de dos oleadas pueden tener implicaciones en la tasa de preñez, ya que se considera que el folículo preovulatorio presente en los ciclos de dos oleadas crece durante un período de tiempo relativamente mas largo y puede contener un ovocito de mayor edad (Adams *et al.*, 2008), no obstante, algunos resultados obtenidos previamente son

contradictorios, ya que se ha reportado un menor porcentaje de preñez en ciclos de dos oleadas (Townson *et al.*, 2002), mientras que los resultado de otros autores no han sido estadísticamente diferentes (Ahmad *et al.*, 1997; Bleach *et al.*, 2004). Una posible explicación a nuestros resultados es que los folículos ovulatorios de los ciclos de dos oleadas son mas viejos que los producidos en ciclos de tres oleadas (Townson *et al.*, 2002). Los folículos ovulatorios jóvenes sintetizan E₂ a un ritmo mas lento, lo que ocasiona un retraso en la obtención de cantidades suficientes de estradiol circulante para inducir la oleada preovulatoria de GnRH/LH (Wiltbank *et al.*, 2011). De la misma forma, la menor síntesis de estradiol puede estar relacionada con cantidades insuficientes de receptores para la LH en las células de la granulosa (Gimenes *et al.*, 2008)

3.7 Conclusiones

En general, los resultados del presente estudio sugieren que existen diferencias en la funcionalidad ovárica y en los patrones de secreción de la LH entre las razas bovinas (*Bos taurus* o *Bos indicus*), y el ganado Criollo. Los resultados del tiempo de ovulación después del estro natural o sincronizado, tasa de crecimiento, tamaño y edad del folículo preovulatorio pueden contribuir con posibles implicaciones prácticas en futuras investigaciones acerca del uso de la inseminación artificial en relación al estro detectado y otras biotecnologías aplicables al ganado Criollo.

4. ACTIVIDAD OVÁRICA Y SECRECIÓN DE PROGESTERONA EN CICLOS ESTRALES DE DOS Y TRES ONDAS FOLICULARES DE GANADO CRIOLLO DEL ESTADO DE CHIHUAHUA

4.1 Resumen

En el ganado lechero y productor de carne, el número de ondas foliculares afecta los eventos endocrinos y ováricos durante el CE normal. Sin embargo, en el ganado Criollo nativo de México de Chihuahua, una raza poco domesticada, la asociación entre los patrones de oleada y el desarrollo folicular no ha sido estudiada. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del número de ondas foliculares en un CE sobre el desarrollo de folículos anovulatorios y ovulatorios, así como en el desarrollo y función del CL de vacas Criollas. La actividad ovárica y folicular de 22 vacas Criollas multíparas fue registrada diariamente mediante ultrasonografía transrectal durante un CE completo. Adicionalmente se obtuvieron muestras de sangre en forma diaria para determinar las concentraciones séricas de P_4 . Únicamente se observaron ciclos de dos ($n = 17$, 73.3%) y tres ($n = 5$, 22.7%) ondas foliculares. La duración del estro, del CE y de la fase folicular y lútea fueron similares en los ciclos de dos y tres oleadas ($P > 0.05$). Las vacas con ciclos de dos ondas ovularon más temprano ($P < 0.05$) después de la detección del estro que las vacas con tres oleadas. El día de la detección del primer folículo anovulatorio y su diámetro máximo no fueron afectados por el número de ondas foliculares en el ciclo ($P > 0.05$), pero su tasa de crecimiento fue mayor ($P < 0.05$) y el inicio de su regresión fue más

temprano ($P < 0.01$) en los ciclos de tres ondas. En los ciclos de dos ondas se detectaron más temprano los folículos ovulatorios ($P < 0.01$) y estos tuvieron menor ritmo de crecimiento que los de ciclos de tres ondas ($P < 0.01$). El desarrollo (diámetro máximo y volumen) y funcionalidad (concentraciones mínimas y máximas de P_4) del CL fueron similares ($P > 0.05$) en los ciclos de dos y tres ondas. En conclusión, las vacas Criollas presentan dos o tres oleadas foliculares por CE, lo cual altera parcialmente el desarrollo del folículo ovulatorio y el tiempo de ovulación después de la detección del estro. La duración del CE y el desarrollo y funcionalidad del CL no se afectaron por el número de ondas foliculares.

Palabras clave: ganado Criollo, folículos, ondas foliculares, dinámica ovárica, ovulación, progesterona.

4.2 Abstract

In beef and dairy cattle, the number of follicular waves affects endocrine and ovarian events during a normal estrous cycle. However, in Mexican-native Criollo cattle, a shortly and recently domesticated breed, the association between wave patterns and follicular development has not been studied. The objective of this study was to evaluate the effect of number of follicular waves in an estrous cycle on development of anovulatory and ovulatory follicles, as well as corpus luteum (CL) development and functionality in Criollo cows. Ovarian follicular activity of 22 cycling multiparous Criollo cows was recorded daily by transrectal ultrasound examinations during a complete estrous cycle. Additionally, blood samples were collected daily to determine serum progesterone concentrations. Only two- ($n = 17$, 73.3%) and three-

wave follicular ($n = 5$, 22.7%) patterns were observed. Estrus duration, length of estrous cycle and length of follicular and luteal phases were similar ($P > 0.05$) between cycles of two- and three-waves. Two-wave cows ovulated earlier ($P < 0.05$) after estrus detection than three-wave cows. Detection day and maximum diameter of the first anovulatory follicle were not affected ($P > 0.05$) by number of waves, but its growth rate was greater ($P < 0.05$) and its onset of regression was earlier ($P < 0.01$) in cycles with three waves than in those with two waves. In two-wave cycles, ovulatory follicles were detected earlier ($P < 0.01$) and had lower ($P < 0.01$) growth rate than in three-wave cycles. Development (*i.e.* maximum diameter and volume) and functionality (minimum and maximum progesterone concentration) of CL were similar ($P > 0.05$) between two- and three-wave patterns. In conclusion, Criollo cows have two- or three- follicular waves per estrous cycle, which alters partially ovulatory follicle development and ovulation time after estrus detection. Length of estrous cycle, as well as CL development and functionality were not affected by number of follicular waves.

Keywords: Criollo cattle, follicles, follicular waves, ovarian dynamics, ovulation, progesterone.

4.3 Introducción

En los animales domésticos el crecimiento folicular durante el CE es necesario para la adecuada presentación del estro y la ovulación. El crecimiento folicular ocurre en ondas, por lo que al tiempo de la ovulación se inicia una nueva oleada a partir de un grupo de folículos pequeños (Jaiswal *et al.*, 2009). La mayoría de los bovinos

(aproximadamente 95%) presenta dos o tres ondas foliculares durante un CE (Adams *et al.*, 2008). El número de ondas durante el CE en el ganado lechero y productor de carne se relaciona con variaciones en la duración del desarrollo del folículo ovulatorio, duración del CE y su fertilidad. A este respecto se ha sugerido que los folículos preovulatorios de los ciclos de dos ondas pueden resultar persistentes, lo que conduce a una reducción en la fertilidad (Townson *et al.*, 2002). Se ha establecido a la duración del CE como una de las características particulares de los ciclos de dos y tres ondas, ya que se sabe que los ciclos más largos son los que incluyen tres ondas y vice versa. Asimismo, se ha encontrado que existe relación entre una alta proporción de ciclos de tres ondas y animales bajo condiciones de estrés térmico (Wolfenson *et al.*, 1995) o alimentación inadecuada (Gutiérrez *et al.*, 1997). No obstante lo anterior, la caracterización de las ondas foliculares se ha realizado principalmente en ganado lechero o productor de carne, mientras que poca atención ha recibido el ganado de razas nativas como el Criollo, que se localiza en regiones montañosas y llanuras del estado de Chihuahua, México.

El ganado Criollo (también conocido como Corriente) ha sido utilizado por mucho tiempo en las actividades deportivas del rodeo principalmente en Estados Unidos y se reconoce por su alta rusticidad, capacidad de adaptación a condiciones ambientales extremas y resistencia a parásitos y enfermedades (Zárate-Martínez *et al.*, 2010). Esta raza de ganado es capaz de sobrevivir, crecer y reproducirse bajo condiciones de poca alimentación, ya que la disponibilidad de forrajes es baja en las regiones montañosas del norte de México, principalmente durante las temporadas secas. Además se ha reportado que las hembras Criollas que resultan gestantes son aquellas que muestran estro al final del período de detección (Zárate-Martínez *et al.*,

2006). Torres *et al.* (1997) observó que las vacas Criollas presentan un gran número de folículos persistentes que no llegan a ovular, reduciendo así su porcentaje de fertilidad. Estos resultados indican que los folículos preovulatorios en el ganado Criollo pueden ser en realidad persistentes o que ellos experimentan un período de crecimiento más largo con un ritmo de crecimiento menor que puede diferir entre ciclos estrales de dos o tres oleadas foliculares. Las características fisiológicas en los diferentes patrones de desarrollo folicular pueden tener implicaciones importantes en los programas de manejo reproductivo y para el desarrollo de protocolos de sincronización del estro y la ovulación en el ganado Criollo. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del número de ondas foliculares en el CE sobre el desarrollo de los folículos anovulatorios y ovulatorios, así como sobre el desarrollo y funcionalidad del CL en vacas Criollas.

4.4 Materiales y métodos

4.4.1 Animales y manejo

Todos los procedimientos relacionados con animales fueron llevados a cabo siguiendo los lineamientos de la Ley federal de sanidad animal (artículos 19 a 22) y de la Norma Oficial Mexicana NOM-051-ZOO-1995: Trato humanitario en la movilización de animales.

El presente estudio se realizó durante la primavera en el rancho “El Cuerno”, localizado en el municipio de Ahumada, Chihuahua (latitud 30° 29' N, longitud 106° 28' W). Se utilizaron 30 vacas Criollas multíparas (uno a tres partos) con un período $\geq$ 7 meses sin gestación, en estado cíclico, peso corporal de 357 a 465 kg y condición

corporal de 4 o 5 (en escala 0 = emaciada, 9 = obesa). La ciclicidad ovárica de todas las vacas se determinó por la presencia de signos conductuales de estro durante un mes antes del inicio del experimento; asimismo, se les detectaron CL 12 d antes o en el día del inicio del experimento con la ayuda de un equipo de ultrasonografía (Sonovet 600; Medison, Inc., Cipres, CA). Durante todo el experimento las vacas fueron alojadas en un corral equipado con comederos, bebederos con agua fresca y sombras. Todos los animales fueron alimentados con heno de alfalfa y minerales *ad libitum*.

Al inicio del experimento, todas las vacas fueron tratadas con un protocolo de sincronización basado en un análogo de $\text{PGF}_{2\alpha}$ para lograr el agrupamiento del estro. Las vacas que no mostraron signos de estro fueron excluidas del estudio ($n = 8$). El tratamiento hormonal consistió en la aplicación de dos inyecciones im de 25 mg de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (dinoprost; 5 mL Lutalyse; Pfizer Animal Health) a un intervalo de 11 d entre cada una. Después de la segunda inyección, las vacas fueron observadas continuamente durante 5 d para detectar visualmente el estro. Una vaca fue considerada en estro cuando permitió ser montada por otra durante ≥ 3 s. El CE producido a partir del protocolo hormonal fue monitoreado diariamente mediante ultrasonografías para clasificar cada vaca según el número de ondas foliculares en su CE. Las características del CE, el desarrollo de los folículos anovulatorios, ovulatorios y CL, así como las concentraciones séricas de P_4 fueron comparados entre vacas con diferente número de ondas foliculares.

4.4.2 Caracterización del ciclo estral

El día de la ovulación posterior a la segunda inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$ fue considerado como el d 0 del CE, así, la duración del CE se definió como el intervalo transcurrido entre el d 0 y la siguiente ovulación (intervalo interovulatorio; Peter *et al.*, 2009). Adicionalmente, se registró la duración de la fase lútea y de la fase folicular. La duración de la fase folicular fue definida como el período de tiempo en el cual la dominancia de P_4 ($< 1 \text{ ng mL}^{-1}$) cesó debido a la regresión estructural y funcional del CL maduro y al desarrollo de un folículo preovulatorio (Peter *et al.*, 2009). La duración de la fase lútea fue definida como el período de tiempo en el cual las concentraciones séricas de P_4 se mantuvieron $\geq 1 \text{ ng mL}^{-1}$ (Johnson *et al.*, 2002). Asimismo, las horas de inicio y fin del estro fueron registradas para determinar su duración. A partir de la detección del estro, los ovarios fueron examinados mediante ultrasonografía una vez más cada 8 h para registrar el tiempo de ovulación. Se consideró que un FD ovuló cuando este desapareció entre una observación ultrasonográfica y otra, calculando así el tiempo transcurrido desde el inicio del estro a la ovulación.

4.4.3 Identificación de las ondas foliculares

A partir del estro inducido con $\text{PGF}_{2\alpha}$ y hasta la presentación de la ovulación se realizaron observaciones ultrasonográficas de ambos ovarios (aparato Sonovet 600 con un transductor de arreglo lineal de 7.5 MHz) por vía transrectal cada 8 h para detectar la ovulación como el inicio de un nuevo CE a evaluarse. Después de esta ovulación y hasta el subsiguiente estro se realizaron observaciones ultrasonográficas cada 24 h. Durante cada una se identificaron los folículos individuales con diámetro $\geq 1 \text{ mm}$ y se registraron como parte de una cohorte

folicular. Una cohorte folicular fue considerada como un grupo de folículos antrales que formaron una onda folicular a partir de su detección con 1 a 4 mm de diámetro (Peter *et al.*, 2009). El inicio de una onda folicular se determinó cuando una cohorte folicular aumentó de tamaño entre observaciones ultrasonográficas, se modificaron a la etapa de subordinación y subsiguientemente a un FD. El fin de una onda folicular se determinó cuando el diámetro de un FD empezó a disminuir debido al proceso de regresión en las ondas anovulatorias o al de ovulación en las ondas ovulatorias (Jaiswal *et al.*, 2009). Los ciclos estrales fueron clasificados como de uno, dos, tres o cuatro oleadas foliculares.

4.4.4 Desarrollo de folículos anovulatorios y ovulatorios

Con la información obtenida en relación a las ondas foliculares, los folículos dominantes fueron clasificados como anovulatorios y ovulatorios. En las vacas que tuvieron dos oleadas se registró el desarrollo de los folículos dominantes anovulatorios de la primera oleada y el del FD ovulatorio de la segunda, mientras que en las vacas que tuvieron tres oleadas se registró el desarrollo de los folículos dominantes anovulatorios de la primera y segunda oleada y el del FD ovulatorio de la tercera oleada. Un FD fue considerado como tal cuando fue el de mayor tamaño de una cohorte después del período de selección, midiendo > 8 mm de diámetro en ausencia de otro folículo del mismo o mayor tamaño, además de la aparente ausencia de crecimiento de folículos pequeños (Gutiérrez *et al.*, 1997; Peter *et al.*, 2009). Los folículos dominantes anovulatorios fueron clasificados en fase de crecimiento, estáticos o en regresión. La fase de crecimiento duró desde el primer día de una onda folicular hasta el día que el diámetro del folículo aparentemente dejó

de aumentar; la fase estática duró mientras no se observó cambio alguno en el diámetro del folículo y la fase de regresión incluyó el tiempo en que el diámetro folicular disminuyó (Noseir, 2003).

Después de la detección de los folículos anovulatorios se registró su diámetro máximo, tasa de crecimiento y el inicio de su regresión. Adicionalmente se registró el intervalo de tiempo entre el inicio de la onda ovulatoria y la ovulación. La tasa de crecimiento de los folículos dominantes se definió como el incremento en el diámetro folicular en relación con el diámetro detectado en la observación ultrasonográfica anterior (mm d^{-1}). El inicio de la regresión folicular fue considerado como tal en el día en el que el FD anovulatorio fue clasificado en etapa de regresión.

4.4.5 Desarrollo del cuerpo lúteo

Durante las observaciones ultrasonográficas diarias se llevó a cabo una búsqueda y monitoreo de los CL de cada vaca. Un CL fue considerado como tal cuando, a la ultrasonografía, se le observó una estructura ecogénica, grisácea y claramente demarcada en el estroma ovárico, después de 3 a 5 d en el mismo lugar de la ovulación previa, (Hanzen *et al.*, 2000). El diámetro (D) de cada CL fue medido en el eje transversal de la estructura circular y fue utilizado para calcular el volumen lúteo total (V). El radio (R) fue calculado con la fórmula $R = D/2$ y el V utilizando la fórmula $V = 4/3 \times \pi \times R^3$ (Grygar *et al.*, 1997). Aunque cada CL fue detectado como una estructura con una notable disminución en su ecogenicidad en los últimos días del CE, las imágenes ultrasonográficas no fueron lo suficientemente claras y confiables para determinar el inicio de la regresión lútea y no fueron utilizadas para ello.

4.4.6 Funcionalidad del cuerpo lúteo y determinación de las concentraciones de progesterona

La funcionalidad del CL fue determinada midiendo las concentraciones séricas de P_4 . Después de la ovulación inducida por $PGF_{2\alpha}$ ($d = 0$) se obtuvieron muestras de sangre diariamente a las 07:00 hasta el día en que se observó la siguiente ovulación. En todas las vacas, la recolección de las muestras de sangre se realizó mediante punción de la vena yugular. La sangre fue depositada en tubos vacutainer (Fischer Scientific, Pittsburg, PA) de 10 mL, transportada en hielo inmediatamente al laboratorio y centrifugada a $3,000 \times g$ durante 30 min a 4°C . El suero fue separado, almacenado en tubos de 2 mL para microcentrífuga y almacenado a -20°C hasta el realizar el análisis por la técnica de radioinmunoensayo para determinar la concentración de P_4 (Schneider and Hallford, 1996). La sensibilidad del ensayo fue de 0.1 ng mL^{-1} , los coeficientes de variación Inter- e intra-ensayo fueron de 2.6 y 3.7 %, respectivamente. Se registraron los resultados de las concentraciones de P_4 mínima y máxima durante la fase lútea del CE, así como el día del ciclo en el que se presentó la máxima concentración de P_4 . El inicio de la regresión lútea se determinó cuando las concentraciones séricas de P_4 empezaron a decrecer después de haber detectado su máximo nivel, en ausencia de otros incrementos (Nisweinder *et al.*, 2000).

4.4.7 Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza bajo un diseño completamente al azar utilizando el PROC GLM del paquete estadístico SAS. El número de oleadas foliculares (dos o tres) fue utilizado como tratamiento y

cada vaca como unidad experimental. Cuando se detectaron diferencias significativas en el análisis de varianza se realizaron comparaciones de medias con la prueba de t de Student a nivel de significancia de 5% (SAS Institute Inc. Cary, NC).

4.5 Resultados

Un total de 22 vacas (73.3 %) respondieron al protocolo de sincronización exhibiendo signos de estro. De esas 22 vacas, 17 tuvieron un CE con dos ondas foliculares (77.3 %) y cinco con tres ondas (22.7 %). En el presente estudio no hubo vacas que tuvieran una o cuatro ondas foliculares en su CE.

4.5.1 Caracterización del ciclo estral

Los resultados de la caracterización del CE por efecto del número de ondas foliculares se muestran en el Cuadro 4.

Los tiempos de duración del CE, de la fase lútea y de la fase folicular fueron similares en los ciclos de dos y tres oleadas ($P > 0.05$). Asimismo, la duración del estro fue similar ($P > 0.05$) entre los dos tipos de ciclos. El intervalo de tiempo transcurrido del inicio del estro a la ovulación fue en promedio 6.2 h mas corto ($P < 0.05$) en vacas con ciclos de dos oleadas.

4.5.2 Desarrollo folicular y lúteo

Los resultados del desarrollo de los folículos dominantes y del CL por efecto del número de ondas foliculares se muestran en el Cuadro 5. El día de la detección y

Cuadro 4. Caracterización de ciclos estrales con dos y tres ondas foliculares en vacas Criollas.

	Número de ondas foliculares en el ciclo				<i>P</i>
	Dos		Tres		
	Media±EE	Rango	Media±EE	Rango	
Duración del ciclo (d)	21.1 ± 0.3	21 a 23	21.4 ± 0.6	21 a 22	0.713
Duración de la fase folicular (d)	7.4 ± 0.1	6 a 9	7.6 ± 0.3	7 a 8	0.655
Duración de la fase lútea (d)	13.7 ± 0.3	12 a 16	13.8 ± 0.5	13 a 15	0.958
Duración del estro (h)	14.2 ± 3	8 a 20	14.0 ± 2.4	10 a 16	0.913
Tiempo del estro a la ovulación (h)	36.2 ± 5.7	28 a 48	42.4 ± 4.6	36 a 48	0.040

el diámetro máximo del primer FD anovulatorio fueron similares en los ciclos con dos y tres oleadas ($P > 0.05$), mientras que su tasa de crecimiento fue mayor ($P < 0.05$) y el inicio de su regresión fue mas temprano en los ciclos con tres oleadas, en comparación con los que tuvieron dos oleadas ($P < 0.01$). En los folículos ovulatorios, el diámetro máximo observado fue similar ($P > 0.05$) en ambos tipos de ciclo, pero su detección fue mas temprana ($P < 0.01$) y su tasa de crecimiento fue menor ($P < 0.01$) en ciclos de dos ondas foliculares. La detección de la ovulación con respecto al día del inicio de la onda folicular ovulatoria fue mas temprana ($P < 0.01$) en ciclos de tres oleadas que en ciclos de dos. En el caso del CL, su diámetro máximo, volumen total, día de inicio de su regresión y el tiempo del inicio de su regresión a la ovulación fueron similares ($P > 0.05$) en ambos tipos de ciclos. De igual manera el CL observado en los ciclos de dos ondas alcanzó su máximo volumen en el mismo día del ciclo que en los de tres ondas ($P > 0.05$).

4.5.3 Funcionalidad del CL

Los resultados de la funcionalidad del CL, basados en la concentración sérica de P_4 por efecto del número de oleadas foliculares en el CE se muestran en el Cuadro 6. Las concentraciones mínima y máxima de P_4 durante la fase lútea no fueron diferentes en ambos tipos de ciclos ($P > 0.05$). La concentración máxima de P_4 se observó alrededor del d 16 post-ovulación en ambos patrones de desarrollo folicular ($P > 0.05$) y oscilaron entre los d 13 y 18 en los ciclos de dos ondas y entre los d 15 y 17 en los ciclos de tres ondas.

Cuadro 5. Dinámica de los folículos anovulatorios y ovulatorios y del cuerpo lúteo en ciclos de dos y tres ondas foliculares en vacas Criollas.

	Número de ondas foliculares en el ciclo				<i>P</i>
	Dos		Tres		
	Media±EE	Rango	Media±EE	Rango	
Primer folículo dominante anovulatorio					
Detección (d del ciclo)	-0.5 ± 0.2	-0.3 a -1.0	-0.4 ± 0.2	-0.3 a -0.6	0.6584
Diámetro máximo (mm)	8.0 ± 0.1	7 a 9	7.6 ± 0.3	7 a 8	0.3447
Tasa de crecimiento (mm d ⁻¹)	0.5 ± 0.03	0.4 a 0.9	0.7 ± 0.06	0.5 a 1.0	0.0283
Inicio de la regresión (d del ciclo)	11 ± 0.8	10 a 12	7.8 ± 0.4	7 a 9	0.0006
Segundo folículo dominante anovulatorio					
Detección (d del ciclo)	—	—	9.6 ± 0.5	9 a 10	—
Diámetro máximo (mm)	—	—	7.2 ± 0.2	6 a 8	—
Tasa de crecimiento (mm d ⁻¹)	—	—	0.4 ± 0.08	0.2 a 0.9	—
Inicio de la regresión (d del ciclo)	—	—	14.8 ± 0.8	14 a 16	—
Folículo ovulatorio					
Detección (d del ciclo)	11.2 ± 0.8	10 a 12	14.8 ± 0.8	14 a 16	<0.001
Diámetro máximo (mm)	10.5 ± 0.2	8 a 12	10.0 ± 0.4	9 a 11	0.9066
Tasa de crecimiento (mm d ⁻¹)	0.5 ± 0.04	0.4 a 1.0	0.9 ± 0.08	0.6 a 1.3	0.0008
Diámetro al inicio de la regresión lútea (mm)	9.0 ± 0.3	7 a 11	8.6 ± 0.6	6 a 10	0.5707
Detección a la ovulación (d)	10.8 ± 1.0	9 a 12	7.6 ± 0.5	7 a 8	<0.001
Cuerpo lúteo					
Diámetro máximo (mm)	13.0 ± 1.0	12 a 14	13.2 ± 1.7	11 a 16	0.7752
Volumen máximo (cm ³)	1.2 ± 0.4	0.6 a 2.1	1.1 ± 0.2	0.9 a 1.4	0.7419
Máximo volumen alcanzado (d del ciclo)	8.7 ± 0.8	7 a 10	8.8 ± 0.8	8 a 10	0.8292
Inicio de la regresión (d del ciclo)	16.3 ± 1.6	13 a 18	16.8 ± 1.1	15 a 18	0.5118
Inicio de la regresión a la ovulación (d)	4.7 ± 0.3	3 a 8	4.6 ± 0.6	4 a 6	0.4647

Cuadro 6. Concentraciones séricas de progesterona durante la fase lútea en ciclos estrales de dos y tres ondas foliculares de vacas Criollas.

	Número de ondas foliculares en el ciclo				<i>P</i>
	Dos		Tres		
	Media±EE	Rango	Media±EE	Rango	
Concentración mínima de progesterona (ng mL ⁻¹)	1.4 ± 0.4	1.0 a 2.5	1.4 ± 0.3	1.1 a 2.0	0.9180
Concentración máxima de progesterona (ng mL ⁻¹)	6.5 ± 0.1	5.6 a 7.8	6.5 ± 0.2	6.2 a 6.9	0.9086
Día del ciclo con el pico de progesterona	15.9 ± 1.6	13 a 18	16 ± 1.0	15 a 17	0.9393

4.6 Discusión

Este es el primer estudio que caracteriza el CE y la dinámica ovárica considerando el número de oleadas foliculares en ganado Criollo de Chihuahua. El desarrollo folicular en el bovino ocurre en ondas, generalmente dos o tres dentro de un CE (Bo *et al.*, 2003). Durante cada onda, un folículo es seleccionado para convertirse en dominante, mientras que los folículos subordinados sufren atresia (Adams *et al.*, 2008). La última onda folicular generada en el ciclo termina con un FD preovulatorio que posteriormente ovula (Adams *et al.*, 2008; Jaiswal *et al.*, 2009). La presencia o ausencia de una oleada folicular es regulada por la secreción de la FSH y E₂, sin embargo, el mecanismo que regula la incidencia el patrón de dos o de tres ondas foliculares no se ha entendido completamente (Boer *et al.*, 2011). En el bovino, la predisposición genética o las condiciones ambientales no controladas pueden jugar un papel importante en la presentación de dos, tres o mas ondas foliculares en un ciclo (Noseir, 2003). Estudios previos muestran que la presentación de un número específico de ondas aparentemente no es afectada por la raza, edad (Adams *et al.*, 2008) o época del año (Figuereido *et al.*, 1997). Sin embargo, el incremento en la proporción de los ciclos de tres ondas ha sido asociado con condiciones de mala nutrición y estrés por calor (Wolfenson *et al.*, 1995). Además, en ganado Bos indicus el número de ondas ha sido asociado con el número de partos, en donde las vaquillas han presentado mayormente ciclos de tres ondas, mientras que las vacas presentan ciclos de dos ondas (Bo *et al.*, 2003). Las vacas Criollas de este estudio presentaron ciclos estrales con dos y tres ondas, lo cual concuerda con reportes previos de ganado Bos taurus y Bos indicus (Townson *et al.*, 2002).

Asimismo, esta raza tuvo dos ondas en su CE en su mayoría (77.3 %), lo cual no coincide con otros resultados, en los que se reporta el 20% de las vacas con ciclos de dos ondas y 80% con ciclos de tres (Sirosis *et al.*, 1988). No obstante, estudios previos también han reportado una mayor proporción de vaquillas con dos ondas en su ciclo (Ginther *et al.*, 1989). Considerando lo anterior, los resultados sugieren que las vacas Criollas tienen patrones de desarrollo folicular muy similares a los observados en vaquillas de otras razas. Aunque los factores que influyen la proporción de los patrones de dos o tres ondas se desconocen, existen dos hipótesis generales que pueden explicar los eventos ováricos que determinan si se presenta una tercera oleada folicular durante el intervalo interovulatorio: 1) un intervalo mas corto entre la presentación de las ondas secuenciales puede permitir la aparición de mas ondas, aún cuando el intervalo interovulatorio permanece igual; y 2) un intervalo interovulatorio mas largo puede permitir la emergencia de una onda adicional, aún cuando el intervalo entre cada onda es constante (Ginther *et al.*, 1989).

Estudios previos han indicado que los ciclos estrales de dos ondas foliculares son más cortos debido a que la regresión del CL inicia antes que en los ciclos de tres ondas, resultando en una fase lútea más corta (Ginther *et al.*, 1989; Adams *et al.*, 2008), sin embargo, los ciclos estrales de las vacas del presente estudio no tuvieron estas características, ya que tanto la duración del ciclo, como la de la fase lútea y el día del inicio de la regresión lútea fueron similares en ambos tipos de ciclos. Se ha propuesto que los mecanismos que desencadenan la regresión lútea inician con la liberación de estradiol por parte del FD (previamente expuesto a P_4), el cual estimula la secreción de OT hipofisiaria, que a su vez estimula la liberación de $PGF_{2\alpha}$ en el útero, lo que conduce eventualmente a su destrucción (Nisweinder *et al.*, 2000). Un

aumento en las concentraciones de estradiol esta correlacionado positivamente con el aumento de tamaño del FD (Figuereido *et al.*, 1997; Noseir, 2003), y aunque las concentraciones séricas de estradiol no fueron analizadas en el presente estudio, la duración similar del CE y su fase lútea en ambos tipos de ciclo puede ser explicada por el hecho de que los folículos dominantes tuvieron tamaño similar al inicio de la regresión lútea y ellos pueden haber producido cantidades similares de estradiol. Estos niveles de estradiol aparentemente fueron suficientemente altos para desencadenar la regresión lútea en aproximadamente el mismo tiempo (Ginther *et al.*, 1989; Adams *et al.*, 2008). Los resultados obtenidos acerca de la duración del estro coinciden con lo obtenido por Pancarci (1999), quien encontró estros de duración similar en ciclos de dos y tres ondas en vacas lecheras.

El promedio general de tiempo entre el inicio del estro y la ovulación fue mayor que el reportado en vacas de razas comerciales (Peter *et al.*, 2009). Asimismo, dicho intervalo fue 6.2 h más largo en las vacas con tres ondas foliculares. En general, estos resultados sugieren que existen diferencias en la funcionalidad del ovario y los patrones de secreción hormonal (estradiol, FSH y LH) entre las razas completamente domesticadas (*Bos taurus* y *Bos indicus*) y aquellas menos domesticadas, como el ganado Criollo. Adicionalmente, este hallazgo acerca del tiempo de ovulación en relación con los signos del estro tiene gran importancia en futuras investigaciones relacionadas con el uso de la biotecnología reproductiva en la raza Criollo. Una explicación a estos resultados es que los folículos ovulatorios producidos en patrones de crecimiento con tres ondas son más jóvenes a los de dos ondas (Townson *et al.*, 2002). Los folículos ovulatorios jóvenes sintetizan sus E_2 a un ritmo menor, lo cual provoca un retraso en la obtención de concentraciones de estradiol suficientes para

inducir la oleada preovulatoria de la GnRH y la LH (Wiltbank *et al.*, 2011). De igual forma, dicha baja producción de E₂ puede estar relacionada con cantidades insuficientes de receptores la LH en las células de la granulosa (Gimenes *et al.*, 2008).

En el presente estudio, el inicio de la primera onda folicular se observó aproximadamente medio día antes de la ovulación perteneciente al CE previo, tanto en los ciclos dos como en los de tres ondas. Coincidentemente, otros estudios han reportado este comportamiento (Ginther *et al.*, 1989; Jaiswal *et al.*, 2009). Adicionalmente, el diámetro máximo de este folículo anovulatorio fue similar en los dos tipos de ciclo, aún cuando el inicio de su regresión fue más temprano en los ciclos de tres oleadas, en comparación con los de dos oleadas (d 8 y 11, respectivamente). El menor ritmo de crecimiento observado en este estudio, además del posterior inicio de la regresión de los folículos anovulatorios de las vacas con ciclos de dos ondas fue el factor clave que produjo folículos de mayor tamaño. Contrario a esto, en vacas de razas productoras de leche, Noseir (2003) encontró folículos anovulatorios de mayor tamaño sin diferencias en su tasa de crecimiento o tiempo de inicio de su regresión en ciclos de tres ondas foliculares comparados con ciclos de dos ondas. Estas discrepancias entre los resultados pueden ser atribuidas a variaciones en las concentraciones de gonadotropinas (principalmente la FSH) entre las diferentes razas bovinas (Parker *et al.*, 2003; Burns *et al.*, 2005).

Las vacas con dos ondas foliculares tienen folículos de mayor edad y tamaño a la ovulación, en comparación con las vacas con tres ondas (Townson *et al.*, 2008). En el presente estudio, el folículo ovulatorio fue detectado más temprano y el tiempo de su detección a su ovulación fue mayor en ciclos de dos ondas, sin embargo, el

tamaño del diámetro ovulatorio no varió en ambos tipos de ciclos. Este resultado es consecuencia del aumento en la tasa de crecimiento encontrado en los folículos de los ciclos de tres ondas. Así, en los ciclos de tres ondas, el mayor ritmo de crecimiento del folículo ovulatorio compensó el menor tiempo desde su detección a la ovulación, provocando diámetros foliculares similares al final. Nuestros resultados en cuanto al diámetro folicular máximo y su crecimiento no coinciden con otros resultados obtenidos previamente en ganado lechero, en donde los folículos ovulatorios en ciclos de tres ondas crecieron a ritmo similar pero con diámetro máximo final menor a los de folículos en ciclos de dos ondas (Townson *et al.*, 2002). El manejo, intensidad de ordeño, raza, alimentación y temperatura ambiental son factores que pueden producir variaciones en los resultados del desarrollo de los folículos ovulatorios. Por otra parte, los ciclos de dos ondas han sido asociados con una fertilidad reducida debido a un período prolongado de desarrollo tanto del FD como de su ovocito (Townson *et al.*, 2002; Adams *et al.*, 2008). Las vacas Criollas del presente estudio presentaron ciclos de dos ondas foliculares principalmente (77.3%) y pocos ciclos de tres ondas (22.7%); por ello, aún cuando la fertilidad no fue evaluada, los resultados obtenidos sugieren que las vacas Criollas pueden tener menor fertilidad de forma natural, lo que resulta lógico si se considera que los animales de este genotipo tienden a presentar cierta estacionalidad reproductiva bajo las condiciones ambientales en las que se ha desarrollado.

En general, el diámetro máximo alcanzado por los folículos dominantes anovulatorios (primera y/o segunda onda folicular no ovulatoria) y por los folículos dominantes ovulatorios en ambos tipos de ciclos es menor a los obtenidos previamente en ganado productor de leche (Ginther *et al.*, 1989) y carne (Jaiswal *et*

al., 2009). En ganado Nelore, una raza conocida por su rusticidad, similar a la del ganado Criollo, los folículos ovulatorios son más pequeños que los de otras razas *Bos taurus* (Townson *et al.*, 2002). Esta situación puede deberse a los mecanismos de adaptación desarrollados por el ganado Criollo y Nelore para sobrevivir y reproducirse bajo condiciones ambientales y nutricionales adversas. Al tratar de explicar tales diferencias se han formulado algunas hipótesis que afirman, por ejemplo, que el diámetros folicular pequeño del ganado *Bos indicus* se debe a una menor capacidad del hipotálamo de secretar GnRH (Townson *et al.*, 2002). Del mismo modo, la estacionalidad y los mecanismos mediante los cuales la duración del día afecta las funciones reproductivas no se han establecido completamente, pero la mayoría de la información disponible a este respecto sugiere que el ganado *Bos indicus* son más susceptibles a estos efectos que el ganado *Bos taurus* (Rhodes *et al.*, 1995). Los aspectos nutricionales también pueden influenciar de forma negativa el desarrollo y crecimiento folicular (Bo *et al.*, 2003). El ganado Criollo se localiza principalmente en regiones montañosas, en donde la disponibilidad de forraje depende directamente de la época de lluvias, por ello, durante las temporadas secas, este ganado presenta un balance energético negativo que se refleja como una posible falla en las funciones ováricas normales (Lopes *et al.*, 2007).

De acuerdo con el presente estudio, el número de ondas foliculares no afectó el diámetro y volumen máximo del CL durante la fase lútea del CE. Lo anterior fue debido a que el diámetro máximo del folículo ovulatorio fue similar en los ciclos de dos y tres oleadas. Jaiswal *et al.* (2009) encontraron una correlación positiva entre el diámetro folicular y el tamaño del CL. El tamaño del folículo ovulatorio está relacionado directamente con la síntesis de E_2 , ya que las células de la granulosa

son responsables de tal producción hormonal, por lo tanto, con un mayor tamaño folicular aumentarán las concentraciones de E_2 y la LH, así como los receptores de la LH en las células de la teca y de la granulosa (Meter *et al.*, 2009). La hormona luteinizante es importante para el desarrollo y funcionamiento normal del CL en la mayoría de los mamíferos (Nisweinder *et al.*, 2000). En los bovinos, la liberación episódica de los pulsos de la LH durante el período que precede a la oleada preovulatoria de gonadotropinas es requerida para la maduración del folículo que permita el desarrollo adecuado del CL (Quintal-Franco *et al.*, 1999). Adicionalmente, en el presente estudio se observó que la funcionalidad del CL (síntesis y día del pico de P_4) no cambió por efecto del número de ondas foliculares por ciclo; otros estudios realizados con ganado lechero también han publicado resultados similares (Grygar *et al.*, 1997). La unión de la LH con sus receptores en la membrana de las células luteales del CL lleva a la activación (dependiente de AMP cíclico) de la proteína kinasa A e incrementa la secreción de P_4 en el CL (Nisweinder *et al.*, 2000). De esta forma, la LH aumenta la producción esferoidal al facilitar el transporte de colesterol a través de las células, por ello, la LH es esencial para el mantenimiento del CL maduro (Gimenes *et al.*, 2008). No obstante, los resultados del presente estudio sugieren que, en vacas Criollas, este mecanismo de secreción de P_4 no se ve afectado por los patrones de desarrollo folicular evaluados.

En comparación con la información publicada previamente (Grygar *et al.*, 1997; Jaiswal *et al.*, 2009), en las vacas del presente estudio se observaron CL mas pequeños pero con similar capacidad de producción de P_4 que uno grande. Lo anterior añade evidencia al conocimiento científico de la capacidad del CL de secretar altas cantidades de P_4 independientemente de su tamaño. Mann *et al.*

(2009) indicaron que durante las etapas tempranas del desarrollo del CL existe una relación positiva entre su tamaño y la concentración de P_4 , pero hacia el d 8 del ciclo el tamaño del CL no es un factor determinante. Esta disociación entre el desarrollo estructural y funcional del CL fue observada también en vaquillas (Rhodes *et al.*, 1995), sin embargo, en otros estudios se ha asumido que un CL grande producirá más P_4 y generará concentraciones séricas más altas (Grygar *et al.*, 1997; Peter *et al.*, 2009; Lüttgenau *et al.*, 2011).

4.7 Conclusiones

La raza de ganado Criollo presenta patrones de desarrollo folicular de dos y tres ondas por ciclo estral, siendo más común aquellos con dos ondas, no obstante, su número no afecta la duración del ciclo, sus fases o funcionalidad del CL. Adicionalmente, los folículos anovulatorios y ovulatorios en ciclos de tres ondas aparentemente tienen menor tiempo de desarrollo pero mayor ritmo de crecimiento en comparación con los de dos ondas, lo que produjo diámetros foliculares máximos similares pero diferentes intervalos de tiempo del estro a la ovulación. Finalmente, una peculiaridad del ganado Criollo es que el tamaño del CL y folículos (anovulatorios u ovulatorios) son más pequeños que los observados en otras razas productoras de carne o leche, sin embargo, el tamaño del CL no afecta su síntesis de progesterona. Estas observaciones pueden tener implicaciones prácticas en la implementación de programas de manejo reproductivo en ganado Criollo.

5. APLICACIÓN DE eCG EN SUSTITUCIÓN DE ESTRADIOL POST- RETIRO DEL CIDR EN GANADO CRIOLLO SOMETIDO A UN PROTOCOLO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

5.1 Resumen

Se realizaron 2 experimentos para evaluar el efecto de administrar gonadotropina coriónica equina (eCG) en sustitución de estradiol 24 h post-retiro del CIDR sobre la conducta estral y ovulatoria y la tasa de gestación de vacas (exp. 1; n=21) y vaquillas (exp. 2; n=39) Criollas de Rodeo sometidas a un protocolo de sincronización con IA a celo detectado (estradiol+CIDR+PGF_{2α}). Todas las hembras fueron inseminadas 12 h después de detectado el estro. En vacas, estradiol produjo similar respuesta de estro y ovulación y diámetro máximo del folículo pre-ovulatorio a eCG. Sin embargo, el tiempo al estro fue más corto con estradiol, pero eCG aumentó la agrupación del estro y la ovulación, e incrementó la tasa de preñez. En vaquillas, comparado con eCG, estradiol incrementó la presentación del estro y redujo el tiempo al estro sin diferencia en el porcentaje de hembras que ovularon. Ambos tratamientos produjeron baja tasa de preñez, siendo significativamente menor con eCG. En conclusión, aplicación de eCG en sustitución de estradiol post-retiro del CIDR en un protocolo de IA a celo detectado mostró aumentar la agrupación del estro y ovulación y, consecuentemente, la tasa de preñez en vacas pero no en vaquillas.

Palabras clave: Ganado Criollo, sincronización, gonadotropina coriónica equina, estradiol.

5.2 Abstract

Two experiments were conducted to evaluate the effect of administering equine chorionic gonadotropin (eCG) in substitution of estradiol 24 h after CIDR removal on estrus and ovulation behavior, and pregnancy rates of Rodeo Criollo cows (exp. 1 n=21) and heifers (exp. 2 n=39) subjected to a synchronization protocol (estradiol + CIDR + PGF_{2α}) with estrus-detected artificial insemination (AI). All females were inseminated 12 h after detected estrus. In cows, estrus and ovulation response and maximum pre-ovulatory follicle diameter were similar between eCG and estradiol. However, time to estrus was shorter with estradiol, but eCG increased the estrus and ovulation grouping, as well as pregnancy rate. In heifers, compared with eCG, estradiol presented greater estrus response and lower time to estrus, without any difference on ovulation rate. Both treatments resulted in low pregnancy rates, with significantly lower rate in eCG heifers. In conclusion, application of eCG in substitution of estradiol after CIDR removal in an estrus-detected AI protocol increased the estrus and ovulation grouping and, consequently, pregnancy rate in cows but not in heifers.

Keywords: Criollo cattle, synchronization, equine chorionic gonadotropin, estradiol

5.3 Introducción

En el estado de Chihuahua, México, se ubica el ganado Criollo, también conocido como Corriente, que ha sido exportado masivamente a Estados Unidos y Canadá para la práctica deportiva del rodeo, por lo cual representa una fuente de ingresos económicos para los ganaderos de ese estado (Félix-Portillo *et al.*2006). No obstante, la producción de becerros no es elevada, y generalmente es de tipo

estacional, lo cual hace notar la pobre eficiencia reproductiva que tiene este biotipo de ganado Criollo. Hernández (2001) reportó que las vaquillas criollas presentan su primer parto alrededor de los 4 años y tienen entre 4 y 5 crías en su vida productiva. En este sentido, las técnicas de reproducción asistida son una herramienta que pueden ser aplicadas para aumentar la productividad de este ganado, tales como los protocolos sincronización del estro e inseminación artificial (IA).

Algunos protocolos de sincronización del estro e IATF usados comúnmente en ganado de carne han sido probados en ganado Criollo para inducir la actividad reproductiva a edades más tempranas y reducir el intervalo entre parto (Torres *et al.*, 1997; Ramírez *et al.*, 1998; Zárate-Martínez *et al.*, 2010). El protocolo basado en CIDR+1 mg de estradiol con PGF₂ alfa (PGF_{2α}) y estradiol aplicado 24 h post-retiro del CIDR es el que mejores resultados en cuanto a presentación de estro ha dado, pero con muy bajos porcentajes de preñez. Por ejemplo, Zárate-Martínez *et al.* (2010) reportaron 100 % vacas Criollas multíparas en estro y 9.09 % de tasa de preñez desarrollando este protocolo con IATF (a 56 h). Similarmente, usando el mismo protocolo en ganado Brangus, Malik *et al.* (2012) observaron bajo porcentaje de vacas gestantes (28.6 % con monta natural y 18.0 % con IA). Zárate-Martínez *et al.* (2010) mencionan que la baja tasa de preñez con este protocolo se debió a que el tiempo de ovulación es muy variable en el ganado Criollo, resultando poco práctica la realización de IATF. Posiblemente, aplicando hormona gonadotrópica coriónica equina (eCG) en lugar de estradiol 24 h post-retiro del CIDR en combinación con IA, usando la regla AM-PM, se puede aumentar la tasa de preñez en este tipo de ganado, ya que el tiempo de ovulación puede ser más predecible dentro de las 12 h después de presentar el estro (Baruselli *et al.*, 2004). La hormona eCG post-retiro del

CIDR incrementa el desarrollo folicular, el ritmo de crecimiento del FD, la síntesis de estradiol, el porcentaje de vacas que ovulan, la síntesis de P₄ post-IA (Baruselli *et al.*, 2004; Ramírez-Godínez *et al.*, 2000) y el porcentaje de gestación, el cual ha resultado mayor con respecto a grupos testigo (Souza *et al.*, 2009; Sá Filho *et al.*, 2010a; Sá Filho *et al.*, 2010b) y a vacas tratadas con estradiol (Fernández-Abella y Villegas, 2002).

Cabe señalar que el uso de eCG no se ha probado en protocolos de sincronización en ganado Criollo. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de administrar de eCG en sustitución de estradiol post-retiro del CIDR sobre la conducta estral y ovulatoria, y la tasa de gestación en vacas y vaquillas Criollas de Rodeo sincronizadas con un protocolo hormonal basado en estradiol, P₄ y PGF_{2α} e inseminadas artificialmente a estro detectado.

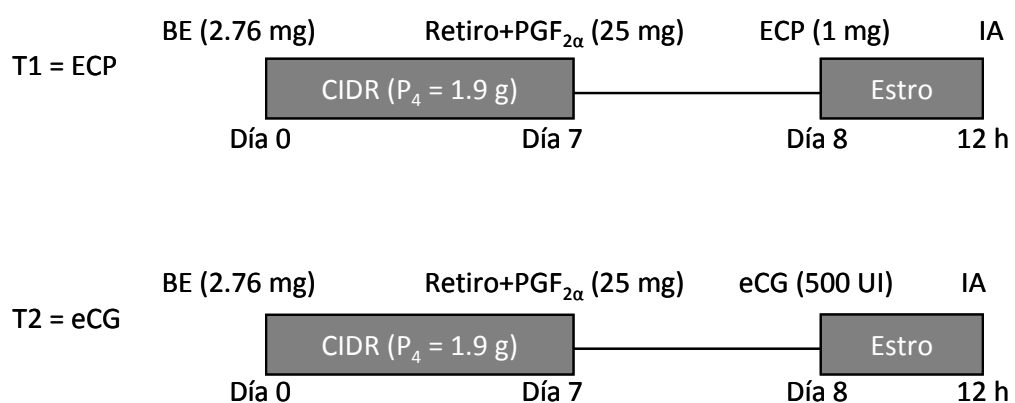
5.4 Materiales y métodos

El estudio se realizó en el estado de Chihuahua, al norte de México, y consistió en 2 experimentos. El experimento 1 se llevó a cabo en el rancho Teseachi, propiedad de la Universidad Autónoma de Chihuahua (28° 48' latitud norte y 107° 25' longitud oeste), con 21 vacas vacías, no lactando, de aproximadamente 5 años de edad y peso vivo promedio de 350 kg. El experimento 2 se realizó en el rancho de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (31° 21' latitud norte y 105° 59' latitud oeste), con 39 vaquillas de aproximadamente 15 meses de edad y peso vivo promedio de 212.5 kg. Tanto vacas como vaquillas presentaban una condición corporal de 4.0 unidades (escala de 1 a 9; Richards *et al.*, 1986) y eran cíclicas, ya que tuvieron concentraciones séricas de P₄ > 1 ng / mL⁻¹ en uno de dos muestreos

sanguíneos efectuados una semana antes de iniciar cada experimento (Johnson *et al.*, 2002). La determinación de los niveles de P_4 en sangre se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Schneider y Hallford (1996).

En cada experimento, a las hembras se les colocó un dispositivo intravaginal provisto de un progestágeno sintético (CIDR[®], Pfizer México; 1.9 g de P_4) durante 7 d, y se les administró intramuscularmente 2.76 mg de benzoato de estradiol (Estrol[®], Loeffler México) al momento de colocar el dispositivo, así como 25 mg de Dinoprost Trometamina (Lutalyse[®], Pfizer México) al retiro de éste (Gráfica 4). Post-retiro del CIDR (24 h), las hembras fueron divididas aleatoriamente en 2 grupos para ser tratadas con: 1) 1.0 mg de estradiol (cipionato de estradiol, ECP[®], Pfizer, México) ó 2) 500 UI de eCG (Folligon[®], Intervet México). En vacas, 11 fueron tratadas con estradiol y 10 con eCG, mientras que en vaquillas, 19 fueron tratadas con estradiol y 20 con eCG. Finalmente, las hembras fueron inseminadas artificialmente 12 h después de que el estro fue detectado visualmente por uno de cuatro técnicos. El tiempo de detección de estros fue de 56 h a partir del retiro del CIDR. Se consideró que una hembra estaba en estro cuando permitió ser montada por otra durante por lo menos 3 s. La IA fue realizada por uno de dos técnicos experimentados, representados homogéneamente en ambos experimentos y tratamientos, con semen congelado de uno de dos toros de la raza Criollo de Rodeo y de fertilidad probada.

Sobre las 0, 24, 48, 72, 96 y 120 h post-retiro del CIDR se realizó ultrasonografía a los ovarios vía rectal para medir el crecimiento del folículo pre-ovulatorio y determinar el momento de la ovulación. Se consideró que la hembra



Gráfica 4. Protocolos hormonales de sincronización del estro y de la ovulación utilizados en vacas y vaquillas Criollas sincronizadas con benzoato de estradiol (BE), progesterona (CIDR) y PGF_{2α} tratadas con cipionato de estradiol (ECP) y gonadotropina coriónica equina (eCG).

había ovulado cuando se observó la desaparición súbita de un FD de una observación a otra. Adicionalmente, 40 d post-IA se realizó el diagnóstico de gestación vía rectal con un ultrasonido provisto de un transductor lineal de 7.5 mHz. Se utilizó un aparato de ultrasonido marca Aloka 1200 en vacas, mientras que en vaquillas fue uno de la marca Medison[®], modelo Sonovet 600.

Las variables de estudio generadas a partir de la información colectada fueron: respuesta a estro (porcentaje de hembras que presentaron estro de las tratadas), horas a estro (intervalo de tiempo desde la aplicación del tratamiento a la aparición de signos de estro), estros silenciosos (porcentaje de hembras que no presentaron estro y ovularon), estros sin ovulación (porcentaje de hembras que presentaron estro y no ovularon), hembras ovulando (porcentaje de hembras que presentaron desaparición del folículo pre-ovulatorio), diámetro máximo del folículo pre-ovulatorio (diámetro alcanzado del folículo pre-ovulatorio antes de su desaparición), hembras con folículos pequeños (porcentaje de hembras que presentaron como diámetro máximo del folículo pre-ovulatorio < 10.7 mm) y grandes (porcentaje de hembras que presentaron como diámetro máximo del folículo pre-ovulatorio > 10.7 mm; Perry *et al.*, 2007), y tasa de preñez con respecto a hembras tratadas (porcentaje de hembras diagnosticadas como preñadas a los 40 d post-IA del total de tratadas) y a las que presentaron estro (porcentaje de hembras diagnosticadas como preñadas a los 40 d post-IA del total que presentaron estro).

5.4.1 Análisis estadístico

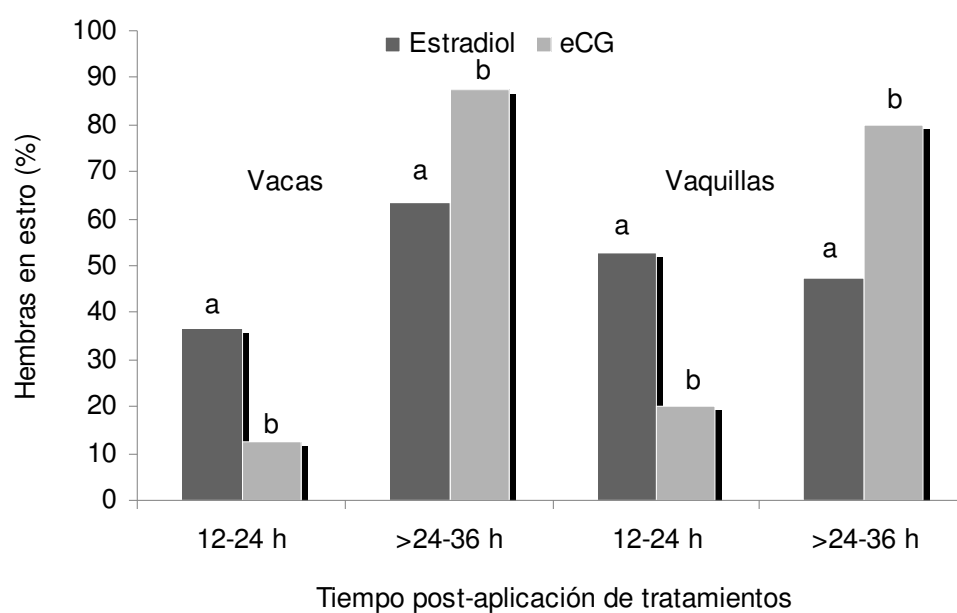
Los análisis estadísticos se realizaron por separado para cada experimento (vacas y vaquillas). Las variables expresadas en porcentaje fueron analizadas con

pruebas de X^2 usando el procedimiento PROC FREQ. En el caso de las variables horas a estro y diámetro máximo del folículo pre-ovulatorio, se realizó un análisis de varianza bajo diseño completamente al azar utilizando el procedimiento PROC GLM. Las comparaciones de medias se realizaron con una prueba de Tukey declarando diferencias entre medias cuando $P < 0.05$. Adicionalmente, el intervalo a estro fue dividido en dos clases (12 a 24 h y >24 a 36 h) para distribuir el porcentaje de hembras que presentaron estro. Asimismo, el intervalo de tiempo en que se observó la desaparición del folículo pre-ovulatorio post-aplicación del tratamiento, se dividió en tres clases (48 a 72 h, 72 a 96 h y 96 a 120 h) para distribuir el porcentaje de hembras que ovularon. En cada intervalo, el porcentaje de hembras en estro u ovulando por tratamiento fueron comparadas con prueba de X^2 usando el procedimiento PROC FREQ. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc. Cary, NC).

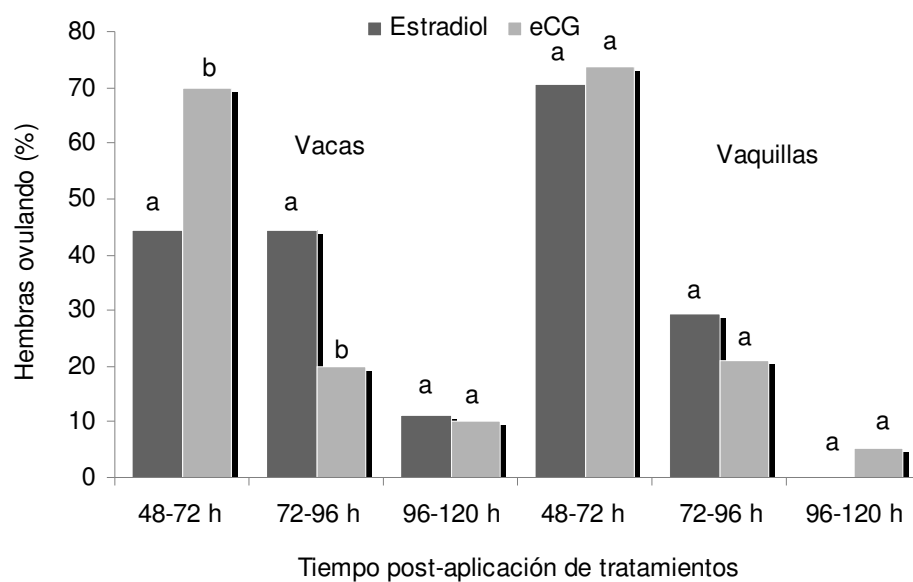
5.5 Resultados

5.5.1 Experimento 1: Vacas

En total, 19 (90 %) vacas respondieron al protocolo de sincronización de estro durante las 56 h de detección de estro post-aplicación de los tratamientos, 11 de las tratadas con estradiol y 8 de las tratadas con eCG (Gráfica 5). Entre 12-24 h post-aplicación de la hormona, el porcentaje de vacas en estro fue mayor ($P < 0.05$) en tratadas con estradiol comparado con eCG (36.4 vs. 12.5 %), pero resultados contrarios fueron observados en el intervalo de tiempo >24-36 h (63.5 vs. 87.5 %). En relación a la distribución de vacas que ovularon post-aplicación de los tratamientos (Gráfica 6), el porcentaje de vacas que ovularon entre 48 y 72 h fue mayor ($P < 0.05$)



Gráfica 5. Distribución de vacas y vaquillas Criollas en estro por efecto de estradiol o eCG 24 h post-retiro del dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR; ^{a,b} letras diferentes en cada intervalo de tiempo indica diferencias a $P < 0.05$).



Gráfica 6. Distribución de vacas y vaquillas Criollas que presentaron ovulación por efecto de estradiol o eCG 24 h post-retiro del dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR; ^{a,b} Letras diferentes en cada intervalo de tiempo indica diferencias a $P < 0.05$).

en las tratadas con eCG que en las tratadas con estradiol (70 vs. 44.4 %), pero entre 72 y 96 h ovularon mayor ($P < 0.05$) porcentaje de vacas tratadas con estradiol (44.4 vs. 20 %). En el intervalo de tiempo 96 a 120 h no se observaron diferencias ($P > 0.05$) en el porcentaje de vacas que ovularon por efecto de tratamiento.

En el Cuadro 7 se presentan los resultados de conducta estrual, respuesta ovulatoria y tasa de preñez en las vacas tratadas. El porcentaje de vacas en estro fue similar ($P > 0.05$) entre tratadas con estradiol y eCG, aunque numéricamente estradiol indujo 20 % más vacas en estro que eCG. Las vacas tratadas con estradiol presentaron un intervalo de tiempo a estro más corto ($P < 0.05$) que las de eCG (24.9 vs. 31.5 ± 2.8 h). El porcentaje de vacas con ovulación, estro silencioso y estro sin ovulación fue similar ($P > 0.05$) entre grupos tratados. El diámetro máximo del folículo pre-ovulatorio no varió ($P > 0.05$) por efecto del tratamiento, ni el porcentaje de vacas ($P > 0.05$) que presentaron diámetros máximos pequeños (< 10.7 mm) o grandes (> 10.7 mm) de folículos pre-ovulatorios. En general, la tasa de preñez fue mayor ($P < 0.05$) en vacas eCG que en las tratadas con estradiol.

5.5.2 Experimento 2: Vaquillas

Un total de 22 (56.4 %) vaquillas presentaron signos de estro 48 h después de haber aplicado los tratamientos, siendo 17 del grupo tratado con estradiol y 5 del grupo tratado con eCG. El porcentaje de vaquillas que presentaron signos de estro entre 12 y 24 h fue mayor ($P < 0.05$) en tratadas con estradiol que en las tratadas con eCG (53 vs. 20 %), y en el intervalo de tiempo > 24 a 36 h, el porcentaje hembras en estro fue mayor ($P < 0.05$) en eCG que en estradiol (80 vs. 47 %; Gráfica 2). En relación a la distribución de hembras que ovularon (Gráfica 3), se observó que la

Cuadro 7. Conducta estrual, respuesta ovulatoria y tasa de preñez de vacas Criollas tratadas con eCG o Estradiol 24 h post-retiro del dispositivo vaginal CIDR.

	Tratamientos	
	Estradiol	eCG ¹
Respuesta a estro (%)	100.0 (11/11) ^a	80.0 (8/10) ^a
Horas a estro (h)	24.9±2.8 ^a	31.5±2.8 ^b
Estros silenciosos (%)	0.0 (0/11) ^a	20.0 (2/10) ^a
Estros sin ovulación (%)	0.0 (0/11) ^a	0.0 (0/10) ^a
Vacas ovulando (%)	100.0 (11/11) ^a	100.0 (10/10) ^a
Folículos pre-ovulatorios		
Diámetro máximo (mm)	10.4±1.6 ^a	10.2±1.6 ^a
Tamaño pequeño (%)	45.5 (5/11) ^a	50.0 (5/10) ^a
Tamaño grande (%)	54.5 (6/11) ^a	50.0 (5/10) ^a
Tasa de preñez (%)		
De vacas tratadas	27.3 (3/11) ^a	60.0 (6/10) ^b
De vacas en estro	27.3 (3/11) ^a	75.0 (6/8) ^b

^{a,b} Letras diferentes en la misma hilera indican diferencia significativa a P<0.05.

¹ Gonadotropina coriónica equina

proporción de vaquillas que ovularon en los intervalos de tiempo 48 a 72 h, 72 a 96 h y 96 a 120 h fue similar ($P < 0.05$) entre grupos tratados.

En el Cuadro 8 se presentan los resultados de conducta estrual, respuesta ovulatoria y tasa de preñez en las vaquillas tratadas. La respuesta a estro fue mayor ($P < 0.05$) y la cantidad de horas a estro menor ($P < 0.05$) en vaquillas tratadas con estradiol comparado con las tratadas con eCG. El porcentaje de estros silenciosos incrementó significativamente ($P < 0.05$) con la aplicación de eCG, mientras que el porcentaje de estros sin ovulación fue similar ($P > 0.05$) entre tratamientos. Asimismo, el porcentaje de vaquillas que ovularon no varió ($P > 0.05$) por aplicar estradiol o eCG. El diámetro máximo promedio del folículo pre-ovulatorio fue similar ($P > 0.05$) en vaquillas tratada con estradiol o eCG, aunque el porcentaje de vaquillas con folículo pre-ovulatorios de tamaño pequeño y grande fue diferente ($P < 0.05$) entre tratamiento, observándose mayor porcentaje de vaquillas con folículos pequeños cuando fueron tratadas con eCG. El porcentaje de vaquillas con folículos grandes fue mayor ($P < 0.05$) con estradiol que con eCG. La tasa de preñez fue mayor ($P < 0.05$) con estradiol que con eCG cuando se consideró el total de vaquillas tratadas, no obstante la tasa de preñez fue similar ($P < 0.05$) entre tratamientos cuando se calculó según las vaquillas que respondieron al tratamiento.

5.6 Discusión

Los resultados de este estudio muestran que la conducta de estro y ovulatoria en respuesta a la aplicación de estradiol o eCG post-retiro del CIDR varió entre vacas y vaquillas, lo cual puede ser debido a que las vaquillas usadas no habían

Cuadro 8. Conducta estrual, respuesta ovulatoria y tasa de preñez de vaquillas Criollas tratadas con eCG o Estradiol 24 h post-retiro del dispositivo intravaginal CIDR.

	Tratamientos	
	Estradiol	eCG ¹
Respuesta a estro (%)	89.5 (17/19) ^a	25.0 (5/20) ^b
Horas a estro (h)	25.8±2.9 ^a	30.6±2.9 ^b
Estros silenciosos (%)	10.5 (2/19) ^a	75.0 (15/20) ^b
Estros sin ovulación (%)	10.5 (2/19) ^a	0.0 (0/20) ^a
Vaquillas ovulando (%)	89.5 (17/19) ^a	100.0 (20/20) ^a
Folículos pre-ovulatorios		
Diámetro máximo (mm)	11.3±1.4 ^a	10.1±1.4 ^a
Tamaño pequeño (%)	41.2 (7/17) ^a	60.0 (12/20) ^b
Tamaño grande (%)	58.8 (10/17) ^a	40.0 (8/20) ^b
Tasa de preñez (%)		
De vaquillas tratadas	31.6 (6/19) ^a	10.0 (2/20) ^b
De vaquillas en estro	35.3 (6/17) ^a	40.0 (2/5) ^a

^{a,b} Letras diferentes en la misma hilera indican diferencia significativa a P<0.05.

¹ Gonadotropina coriónica equina

alcanzado la madurez reproductiva, por lo tanto, el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-gónada no era el óptimo (Meza-Herrera *et al.*, 2012).

Los resultados de respuesta a estro observados en vacas sugieren que tanto estradiol como eCG pueden usarse para estimular favorablemente el ovario en protocolos basados en CIDR, en el caso de ganado Criollo de Rodeo. Aunque estradiol provocó que la aparición de signos de estro se presentara en un intervalo de tiempo más corto pero menos agrupado, lo cual se debe a diferencias en el mecanismo de acción entre hormonas de tratamiento. Estradiol es la hormona encargada de generar los signos de estro, de tal manera que la aplicación exógena de esta hormona incrementa rápidamente sus niveles en sangre y con ello, la aparición de un estro más rápido (Meneghetti *et al.*, 2009). Por su parte, eCG actúa principalmente como la FSH produciendo el crecimiento folicular y consecuentemente la secreción paulatina de estradiol, dependiendo directamente del tamaño máximo alcanzado por el FD (Ramírez-Godínez *et al.*, 2000). Similares resultados de conducta de estro fueron reportaron Duffy *et al.* (2004) en vacas productoras de carne tratadas con estradiol o eCG. Por otra parte, en vaquillas, la menor presentación de estros en las tratadas con eCG se debió a que esta hormona falló en estimular suficientemente el desarrollo y crecimiento folicular, lo cual conllevó a la síntesis de bajos niveles de estradiol y ausencia de signos de estro en la mayoría de las hembras. Lo anterior puede ser verificado con los resultados de porcentaje de vaquillas con folículos pre-ovulatorios pequeños (estradiol = 41.2 % vs. eCG = 60 %). Posiblemente, este tipo de vaquillas criollas requieren una dosis más elevada de eCG para tener una mayor conducta de estro.

El porcentaje de vacas (100 %) y vaquillas (95 %) que ovularon fue alto, sin diferencias entre tratamientos en ninguno de los experimentos, lo cual muestra que ambas hormonas pueden utilizarse para sincronizar la ovulación en protocolos de IA basados en el uso de progestágenos. No obstante, en vacas, eCG comparado con estradiol produjo una presencia de ovulación más agrupada y predecible post-aplicación de los tratamientos (70 vs. 44 % entre 48 y 72 h). La hormona eCG sincroniza y agrupa la presencia del estro a través de estimular el crecimiento y desarrollo de los folículos también en forma sincronizada, consecuentemente, eventos como desencadenamiento del pico pre-ovulatorio y ovulación son más agrupados (Sousa *et al.*, 2009; Sá Filho *et al.*, 2010a). Contrariamente, estradiol no estimula desarrollo folicular, provocando la ovulación solamente en aquellas vacas que presenten un folículo pre-ovulatorio, y el resto de las hembras tendrán signos de estro pero la ovulación se dará hasta que haya un folículo pre-ovulatorio con receptores para la LH (Colazo *et al.*, 2003). Estudios previos indican que estradiol puede reducir la variación en la presentación del pico de la LH, pero ello puede depender del tiempo de aplicación de estradiol con respecto al tratamiento con P₄ y de la dosis de estradiol utilizada (Colazo *et al.*, 2003; Colazo *et al.*, 2005). En el caso de vaquillas, se observó que la aplicación de estradiol ó eCG 24 h post-retiro del CIDR fue igual de efectivo para inducir la ovulación en forma agrupada durante un periodo de tiempo corto (estradiol = 70.6 % y eCG = 73.6 % entre 48 y 72 h post-tratamiento). Este resultado es parcialmente diferente al descrito anteriormente para vacas, donde estradiol fue menos efectivo para sincronizar la ovulación. Colazo *et al.* (2005) y Souza *et al.* (2009) señalan que diferentes factores ambientales y genéticos pueden alterar la respuesta del ganado a los protocolos de sincronización de estro.

A diferencia de las vacas, las vaquillas mostraron anormalidades en su conducta de estro y ovulatoria, siendo más notorio cuando se trataron con eCG en comparación con estradiol (75 vs. 10.5 % de estros silenciosos). El alto porcentaje de vaquillas que ovularon sin signos de estro por efecto de eCG se debió al tamaño pequeño del folículo pre-ovulatorio (10.1 ± 1.4 mm), así, la cantidad de estradiol secretado por los folículos dominantes no fue suficiente para estimular la presencia de los signos de estro. En vaquillas tratadas con estradiol también se presentaron folículos pequeños, sin embargo, la aplicación exógena de ésta hormona favoreció que esas hembras mostraran signos de estro. Estudios previos no han reportado la presencia de estros silenciosos o sin ovulaciones en ganado Criollo de rodeo, o en ganado de razas de carne cuando son sometidos a protocolos de sincronización de estro basados en CIDR+estradiol+PGF_{2α}. No obstante, en el período posparto, Zarate-Martínez *et al.* (2010) reportaron que vacas criollas bajo condiciones naturales no presentaban signos de estro y ovulación cuando su condición corporal era baja, pero cuando la condición corporal aumentaba, la cantidad de vacas ovulando incrementaba sin signos de estro en gran porcentaje de ellas. Esto sugiere que la presencia de anormalidades en la conducta de estro es común en este ganado, y que en el caso de vaquillas, se requiere aplicar una dosis mayor a 500 UI de eCG para aumentar la presencia de estros con este protocolo de sincronización.

Además de obtener una mayor presentación y agrupación de estros y ovulación, el motivo principal de sustituir la aplicación de estradiol con eCG 24 h post-retiro del CIDR en ganado Criollo de rodeo fue aumentar el desarrollo folicular, el tamaño máximo del folículo pre-ovulatorio, y así garantizar un CL de mayor tamaño que podría secretar mayor cantidad de P₄ para aumentar la tasa de preñez.

Souza *et al.* (2009), Sá Filho *et al.* (2010a) y Butler *et al.* (2011) han reportado en ganado Holstein y Nelore esos beneficios con la aplicación de eCG en protocolos donde se utilizan CIDR+estradiol+PGF2 α . Sin embargo, en este estudio se observó que el diámetro máximo del folículo pre-ovulatorio, tanto de vacas como de vaquillas, no aumentó con la aplicación de eCG post-retiro del CIDR, siendo similar al mostrado por las hembras tratadas con estradiol. Contrariamente, eCG aumentó el porcentaje de vaquillas que presentaron folículos pre-ovulatorios de tamaños pequeño (<10.7 mm). En general, se observó que el diámetro folicular, en vacas y vaquillas tratadas con estradiol y eCG, fue considerablemente menor al observado por otros autores en estudios realizados con otras razas (Jaiswal *et al.*, 2009; Townson *et al.*, 2002). Posiblemente, estos resultados son producto de la condición corporal que presentaban las hembras durante el desarrollo de los experimentos. Butler *et al.* (2011) encontraron que una correcta funcionalidad del ovario después de aplicado el protocolo sincronización CIDR+estradiol+PGF2 α +eCG, depende directamente de la condición corporal del animal tratado.

Cabe señalar que Ginther *et al.* (2003) definieron a un FD como aquel que alcanza ≥ 10 mm de diámetro, lo cual se contrapone con lo observado en el presente estudio. Vacas y vaquillas presentaron folículos de diámetro < 10 mm (8 y 9 mm), los cuales se consideraron como dominantes porque ovularon tanto bajo el efecto de estradiol como de eCG. Lo anterior puede sugerir que los folículos dominantes en el ganado Criollo pueden tener capacidad de responder con una ovulación a un estímulo de estradiol o eCG, al igual que los folículos de animales de otras razas de ganado *Bos taurus* (Sartori *et al.*, 2001) y *Bos indicus* (Gimenes *et al.*, 2008), aunque sean considerablemente mas pequeños.

En vacas, la aplicación de eCG 24 h post-retiro del CIDR aumentó significativamente la tasa de preñez comparado con la aplicación de estradiol (60 vs. 27.3 % con base en las tratadas y 75 vs. 27.3 % con base en las que mostraron estro). Esto es producto de la mayor sincronía de los eventos del estro y la ovulación con respecto al momento en que se realizó la IA (12 h post- detección de estro) en el grupo de vacas tratadas con eCG. Lo anterior puede ser visualizado fácilmente si se considera que entre 24 y 36 h post-aplicación de eCG se distribuyó el mayor porcentaje de vacas en estro (87.5 %) y la IA se realizó 12 h después de la detección del estro, lo cual significa que la IA se llevó a cabo entre 36 y 48 h post-aplicación del tratamiento, y el mayor porcentaje de vacas tratadas con eCG ovularon entre 48 y 72 h (70 %). Previamente, Zarate-Martínez *et al.* (2010) habían recomendado aplicar la técnica AM-PM para inseminar artificialmente a vacas Criollas de rodeo después de ser sincronizadas con un protocolo como el desarrollado en el grupo tratado con estradiol. Sin embargo, los resultados de este estudio muestran que no es apropiado para aumentar la tasa de preñez cuando se aplica estradiol, caso contrario se observa cuando se aplica eCG. Cabe mencionar que, según estos resultados, podría utilizarse el protocolo en el cual se aplicó eCG para llevar a cabo IATF. En vaquillas, la tasa de preñez fue baja en general, aunque cuando se calculó en base al total de animales tratados, se observó que estradiol (31.6 %) incrementó la tasa de preñez comparado con eCG (10 %). La causa de estos resultados fue porque solamente se inseminó aquellas vaquillas que presentaron estro, y en el grupo tratado con eCG se observó una pobre respuesta a estro.

Bajo las condiciones del presente estudio, en el ganado Criollo, la aplicación de eCG en sustitución de estradiol 24 h post-retiro del CIDR resultó ser más efectiva

en vacas que en vaquillas, dado que en vacas eCG aumentó la tasa de preñez produciendo una presencia de estros y de ovulaciones similares a la de estradiol. En vaquillas Criollas, la sustitución de estradiol por eCG redujo la respuesta a estro, y consecuentemente, la tasa de preñez, ya que solamente se inseminaron aquellas hembras que mostraron signos de estro. Estudios en los cuales se determine la dosis óptima de eCG se requerirán en un futuro, considerando el alto porcentaje de estros silenciosos detectados en vaquillas tratadas con eCG.

5.7 Conclusiones

Dado que tanto estradiol como eCG indujeron favorablemente la ovulación en vacas y vaquillas pero la aplicación de eCG post-retiro del CIDR produjo ovulaciones más agrupadas y mayor tasa de preñez en vacas, es factible desarrollar un tratamiento hormonal con inseminación artificial a tiempo fijo en este tipo de animales.

6. LITERATURA CITADA

- Adams, G.P., A.C.O. Evans, and N.C. Rawlings. 1994. Follicular waves and circulating gonadotropins in 8-month-old prepubertal heifers. *J. Reprod. Fertil.* 100: 27-33.
- Adams, G.P., R. Jaiswal, J. Singh and P. Malhi. 2008. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology* 69: 72-80.
- Agarwal, S. K., Shanker, U. 1997. Effect of exogenous administration of PGF2 α at different stages of estrous cycle on onset of estrus and subsequent fertility in crossbred cattle. *Indian J. Anim. Reprod.* 18: 95-97.
- Ahmad, N., E.C. Townsend, R.A. Dailey, and E.K. Inskeep. 1997. Relationship of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three waves of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cows and heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 49: 13-28.
- Báez, G.M., H.A. Grajales y J.E. Pérez. 2007. Caracterización del ciclo estral mediante perfiles de esteroides (progesterona, 17 β -estradiol) en la raza *Costeño con cuernos (Bos taurus)* en el trópico Colombiano. *Livest. Res. Rural Dev.* 19: 371-378.
- Baruselli P.S., E.L. Reis, M.O. Marques, L.F. Nasser, and G.A. Bo GA. 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim. Reprod. Sci.* 83: 479-486.
- Beffa, L.M., J.B. van Wyk and G.J. Erasmus. 2009. Long-term selection experiment with Afrikaner cattle 1. Environmental factors affecting calf growth traits. *S. Afri. J. Anim. Sci.* 39: 89-97.
- Bernard, C., J.P. Valet, R. Beland, and R.D. Lambert. 1983. Prediction of bovine ovulation by a rapid radioimmunoassay for plasma LH. *J. Reprod. Fertil.* 68: 425-430.
- Bleach, E.C.L., R.G. Glencross, and P.G. Knight. 2004. Association between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous estrous cycles. *Reproduction* 127: 621-629.
- Bo, G.A., P.S. Baruselli, and M.F. Martinez. 2003. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 78: 307-326.

- Boer, H.M.T., S. Röblitz, C. Stötzel, R.F. Veerkamp, B. Kemp, and H. Woelders. 2011. Mechanisms regulating follicle wave patterns in the bovine estrous cycle investigated with a mathematical model. *J. Dairy Sci.* 94: 5987-6000.
- Burns, D.S., F.J. Krassel, J.L.H. Ireland, P.G. Knight, and J.J. Ireland. 2005. Number of antral follicles during follicular waves in cattle: evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. *Biol. Reprod.* 73: 54-62.
- Butler S.A.A., P.C. Atkinson, G.B. Boe-Hansen, B.M. Burns, K. Dawson, G.A. Bo, and M.R. McGowan. 2011. Pregnancy rates after fixed-time artificial insemination of Brahman heifers treated to synchronize ovulation with low-dose intravaginal progesterone releasing devices, with or without eCG. *Theriogenology.* 76: 1416-1423.
- Calderón, R.R., A. Villa-Godoy, and L.J. Lagunas. 1998. Frecuencia y origen de las elevaciones transitorias de progesterona en vaquillas Cebú x Suizo Pardo prepúberes en condiciones tropicales. *Téc. Pecu. Méx.* 36: 11-13.
- Cárdenas, H., A. Padilla, E. Alvarado, W. Vivanco, and J.G. Berardinelli. 1991. Natural and prostaglandin F (PG)-synchronized estrous cycle in Brown Swiss and Simmental heifers in the highland of Peru. *Anim. Reprod. Sci.* 26: 211-217.
- Colazo M.G., J.P. Kastelic and R.J. Mapletoft. 2003. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. *Theriogenology.* 60: 855-865.
- Colazo M.G., M.F. Martínez, J.A. Small, J.P. Kastelic, C.A. Burnley, D.R. Ward and R.J. Mapletoft. 2005. Effect of estradiol valerate on ovarian follicle dynamics and superovulatory response in progestin-treated cattle. *Theriogenology.* 63: 1454-1468.
- Drillich, M., B.A. Tenhagen, and W. Heuwieser. 2000. Effect of one spontaneous estrus cycle (after synchronization with PGF_{2α}) on reproductive performance in dairy cows. *Theriogenology* 54: 1389-1394.
- Duffy P., M.A. Crowe, E.J. Austin, M. Mihmb, M.P. Boland and J.F. Roche. 2004. The effect of eCG or estradiol at or after norgestomet removal on follicular dynamics, estrus and ovulation in early post-partum beef cows nursing calves. *Theriogenology.* 61: 725-734.
- Félix-Portillo M., J. G. Ríos-Ramírez, G. E. Erosa-de-la-Vega and F. A. Rodríguez-Almeida. 2006. Secuenciación de nuevos alelos BoLA-DRB3.2 detectados en ganado Criollo mexicano. *Téc. Pecu. Méx.* 44: 15-25.

- Fernández-Abella D. and N. Villegas. 2002. Efecto de la administración de eCG o benzoato de estradiol asociados a PGF2a sobre la fertilidad de vacas Hereford de baja condición corporal destetadas precozmente. *Agrociencia*. 2: 33-36.
- Fierro, L. C., y S. A. Torres. 1996. El Ganado Criollo: Recurso Genético y Económico de Chihuahua. *Rev. Chihuahua Ganadero*. Trimestre Abril-Junio.
- Figuereido, R.A., C.M. Barros, O.L. Pinheiro, and J.M.P. Soler. 1997. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos Indicus*) Cattle. *Theriogenology* 47: 1489-1505.
- Folman, Y., Kaim, M., Herz, Z., and Rosenberg, M. 1990. Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. 2. Effects of progesterone and parity on conception. *J. Dairy Sci.* 73: 2817-2825.
- Gallegos, V. A. 1998. Comportamiento reproductivo del ganado de lidia en la zona del altiplano de San Luis Potosí en dos diferentes sistemas de empadre. Tesis de Maestría. Facultad de Agronomía. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí, México.
- Geary, T.W. and J.C. Whittier. 1999. Various systems for synchronization of estrus and ovulation using GnRH and prostaglandin. 1999 CSU Beef Research Report. 93-99.
- Geary, T. W., R. R. Salverson and J. C. Whittier. 2001. Synchronization of ovulation using GnRH or hCG with the CO-Synch protocol in suckled beef cows. *J Anim Sci.* 79:2536-2541.
- Gimenes, L.U., M.F. Sá Filho, N.A.T. Carvalho, J.R.S. Torres-Júnior, A.H. Souza, E.H. Madureira EH, L.A. Trinca, E.S. Sartorelli, C.M. Barros, J.B.P. Carvalho, R.J. Mapleloft, and P.S. Baruselli. 2008. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology* 69: 852-858.
- Ginther O.J., M.A. Beg, F.X. Donadeu and D.R. Bergfelt. 2003. Mechanism of follicle deviation in monovular species. A review. *Anim. Reprod. Sci.* 78: 239-257.
- Ginther, O.J., L. Knopf, and J.P. Kastelic. 1989. Temporal associations among ovarian events in cattle during anestrous cycles with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fertil.* 87: 223-230.
- Giovambattista, G., M.V. Ripoli, P. Peral-Garcia and J.L. Bouzat. 2001. Indigenous domestic breeds as reservoirs of genetic diversity: the Argentinean Creole cattle. *Anim. Genet.* 32: 240-247.

- Grygar, I., E. Kudláč, R. Doležel, and M. Nedbálková. 1997. Volume of luteal tissue and concentration of serum progesterone in cows bearing homogeneous corpus luteum or corpus luteum with cavity. *Anim. Reprod. Sci.* 49: 77-82.
- Gutierrez, C.G., J. Oldham, A.T. Bramley, G.J. Gong, K.B. Campbell, and R. Webb. 1997. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. *J. Anim. Sci.* 75: 1876-1884.
- Hanzen, C.H., M. Pieterse, O. Scenze, and M. Drost. 2000. Relative accuracy of the identification of ovarian structures in the cow by ultrasonography and palpation per rectum. *Vet. J.* 159: 161-70.
- Hawkes, J. M., J. M. Lillywhite, and J. D. Libbin. 2006. A sporting alternative. Sport cattle may help cattle producers round up their profits. *Rangelands*, December 28: 15-17.
- Heano, D., Carrillo, L.M. y Olivera-Angel, M. 2004. Comportamiento durante el calor y dinámica folicular interestral en vacas BON (Blanco Orejinegro). *Rev. Col. Cienc. Pec.* 17: 39-44.
- Heersche Jr, G., G. H. Kiracofe, R. C. DeBenedetti, S. Wen and R. M. McKee. 1978. Synchronization of estrus in beef heifers with a norgestomet implant and prostaglandin F_{2α}. *Theriogenology* 11:197-208.
- Hernández J. 2002. Ciclo estral. En: *Mejoramiento animal, reproducción bovinos*. Editorial Universidad Autónoma de México, México.
- Hernández S.R.M. 2001. Rescate del ganado de rodeo en el Estado de Chihuahua. *Revista Tercer Milenio*. May-Jun. Chihuahua, Chih., Méx. p. 20-21.
- Hernández S.R.M. 2012. Tipificación del ganado Criollo mexicano de los estados de Chihuahua, Baja california, Guerrero, Oaxaca, Puebla y Nayarit. SAGARPA, ASOCRIOLLO, CONARGEN.
- Hernández, R. M. 2001. Caracterización fenotípica y del sistema de producción de ganado criollo de rodeo de la sierra de Chihuahua. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua, México.
- INEGI (2008) Síntesis de información geográfica del estado de Chihuahua. 147 pp. México.
- Jaiswal, R.S., J. Singh, L. Marshall, and G.P. Adams. 2009. Repeatability of 2-wave and 3-wave patterns of ovarian follicular development during the bovine estrous cycle. *Theriogenology* 72: 81-90.

- Johnson, S.K., D.E. Grum, and M.L. Day. 2002. Variations of the CoSynch protocol for timed breeding in postpartum beef cows. KAES Report of Progress 891: 35-40.
- Kasimanickam, R. J. B. Hall, J. F. Currin and W. D. Whittier. 2008. Sire effect on the pregnancy outcome in beef cows synchronized with progesterone based Ovsynch and CO-Synch protocols. Anim Reprod Sci. 104: 1-8.
- Kastelic, J.P., D.R. Bergfelt, and O.J. Ginther. 1990. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. Theriogenology 33: 1269-1278.
- Lamb, G. C., J. S. Stevenson, D. J. Kesler, H. A. Garverick, D. R. Brown and B. E. Salfen. 2001. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F2 α for ovulation control in postpartum suckled beef cows. J. Anim. Sci. 79: 2253-2259.
- Lamb, G. C., J. E. Larson, T. W. Geary, J. S. Stevenson, S. K. Johnson, M. L. Day, R. P., Ansotegui, D. J. Kesler, J. M. DeJarnette and D. G. Landblom. 2006. Synchronization of estrus and artificial insemination in replacement beef heifers using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F2{alpha}, and progesterone. J. Anim. Sci. 84: 3000-3009.
- Larson, J. E., K. N. Thielen, B. J. Funnell, J. S. Stevenson, D. J. Kesler and G. C. Lamb. 2009. Influence of a controlled internal drug release after fixed-time artificial insemination on pregnancy rates and returns to estrus of nonpregnant cows. J. Anim. Sci. 87: 914-921.
- Lopes, A.S., S.T. Butler, R.O. Gilbert, and W.R. Butler. 2007. Relationship of pre-ovulatory follicle size, estradiol concentrations and season to pregnancy outcome in dairy cows. Anim. Reprod. Sci. 99:34-43.
- Lucy, M.C., R.C. Staples, M.F. Michel, and W.W. Thatcher. 1991. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. J. Dairy Sci. 74: 473-482.
- Lucy, M.C., S. McDougall and D.P. Nation. 2004. The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. Anim. Reprod. Sci. 82-83: 495-512.
- Lüttgenau, J., S.E. Ulbrich, N. Beindorff, A. Honnens, K. Herzog, and H. Bollwein. 2011. Plasma progesterone concentrations in the mid-luteal phase are dependent on luteal size, independent of luteal blood flow and gene expression in lactating dairy cows. Anim. Reprod. Sci. 125: 20-29.

- Maatje, K., S.H Loeffler, B. Engel. 1997. Predicting optimal time of insemination in cows that show visual signs of estrus by estimating onset of estrus with pedometers. J. Dairy Sci. 80: 1098-105.
- Malik A., A.W. Haron, R. Yusoff, A. Kasim and S.M. Yusoff. 2012. Pregnancy rate following artificial insemination or natural service in postpartum estrus synchronized beef cattle. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 36: 451-455.
- Mann, G.E. 2009. Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. Anim. Reprod. Sci. 115: 1-4.
- Martínez, F. M., J. P. Kastelic, G. P. Adams, B. Cook, W. O. Olsos and R. J. Mapletoft. 2002. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. Theriogenology. 57: 1049-1059.
- Melendez, P., G. Gonzalez, E. Aguilar, O. Loera, C. Risco and L. F. Archbald. 2006. Comparison of two estrus-synchronization protocols and timed artificial insemination in dairy cattle. J Dairy Sci. 89:4567-72.
- Mendoza, O. E. 2007. El sistema producto Ganado Criollo en la sierra de Chihuahua. Agencia para la gestión de la innovación Chihuahua, Ganado Criollo. Tesis de licenciatura. Facultad de Zootecnia y Ecología. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, México.
- Meneghetti M., O.G. Sá Filho, R.F.G. Peres, G.C. Lamb and J.L.M. Vasconcelos. 2009. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. Theriogenology. 72: 179-189.
- Meza-Herrera C.A., A. González-Bulnes, R.T. Kridli, C.F. Arechiga-Flores, H. Salinas and J.M. Luginbuhl. 2012. Neuroendocrine, metabolic and genomic cues signaling the onset of puberty in females. Reprod. Anim. Dom. In press. doi: 10.1111/j.1439-0531.2009. 01355.x
- Mondal, M., C. Rajkhowa C, and B.S.Prakash. 2006. Behavioral estrous signs can predict the time of ovulation in mithun (*Bos frontalis*). Theriogenology 66: 1391-1396.
- Murphy, M.G., M.P. Boland, and J.F. Roche. 1990. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in postpartum beef suckled cows. J. Reprod. Fert. 90: 523-533.
- Neglia, G., D. Vecchio, M. Russo, R. Di Palo, C. Pacelli, A. Comin, B. Gasparri and G. Campanile. 2012. Efficacy of PGF2 α on pre-ovulatory follicle and corpus luteum blood flow. Reprod. Dom. Anim. 47: 26-31.

- Niswender, G.D., J.L. Juengel, P.J. Silva, M.K. Rollyson, and E.W. McIntush. 2000. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Phys. Rev.* 80: 1-29.
- Noseir, W.M.B. 2003. Ovarian follicular activity and hormonal profile during estrous cycle in cows: the development of 2 versus 3 waves. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 1-50.
- Odde, K. G. 1990. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J. Anim. Sci.* 68: 817-830.
- Pancarci, S.M. 1999. Monitoring and comparing follicular and luteal function between genetically high- and low-producing dairy cows by ultrasonography. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 23: 141-147.
- Parker, K.I., D.M. Robertson, N.P. Groome, and K.L. Macmillan. 2003. Plasma concentrations of Inhibin A and follicle-stimulating hormone differ between cows with two or three waves of ovarian follicular development in a single estrous cycle. *Biol. Reprod.* 68: 822-828.
- Perry G.A., M.F. Smith, A.J. Roberts, M.D. MacNeil and T.W. Geary. 2007. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 85: 684-689.
- Peter, A.T., H. Levine, M. Drost, and D.R. Bergfelt. 2009. Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle. *Theriogenology* 71: 1343-1357.
- Pinheiro, O.L., C.M. Barros, R.A. Figueiredo, E.R. do Valle, R.O. Encarnação, and C.R. Padovani. 1998. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F_{2α} or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology* 49: 667-681.
- Quintal-Franco, J.A., F.N. Kojima, E.J. Melvin, B.R. Lindsey, E. Zanella, K.E. Fike, M.E. Wehrman, D.T. Clopton, and J.E. Kinder. 1999. Corpus luteum development and function in cattle with episodic release of luteinizing hormone pulses inhibited in the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. *Biol. Reprod.* 61: 921-926.
- Ramírez-Godínez J.A., F.A. Rodríguez-Almeida, O.M. Espinoza-Campa and R. Valdés-Saucedo. 2000. Uso de la PMSG o PGF_{2α} al retirar el implante del SMB en vacas productoras de carne. *Agrociencia.* 34: 423-428.
- Ramírez-Godínez, J.A., J.F. Torres-Simental, J.A. Gómez-Castañeda, A. Flores-Marileñarena, J.A. Jiménez-Castro, F.A. Rodríguez-Almeida. 1998. Aspectos reproductivos del ganado Criollo (Rodeo). En Memoria Segundo Foro de

- Análisis de los Recursos Genéticos: Ganado Criollo. Programa Nacional de Recursos Genéticos Pecuarios. 13-14 de agosto. pp. 218-220. SAGAR. Chihuahua, México.
- Rhodes, F.M., G. De'ath, and K.W. Entwistle. 1995. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 38:265-277.
- Richards, M.W., J.C. Spitzer, and M.B. Warner. 1986. Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 62: 300-306.
- Ríos, J.G. 2010. Memoria del Curso de acreditación de inspectores de ganado Criollo para registro. 27-28 de marzo. pp. 2-10. SAGARPA, ASOCRIOLLO, CONARGEN. Chihuahua, México.
- Ríos, R.J.G., and F.A. Rodriguez. 1998. El ganado bovino Criollo en el norte de México. In Memoria Segundo Foro de Análisis de los Recursos Genéticos: Ganado Criollo. Programa Nacional de Recursos Genéticos Pecuarios. 13-14 de agosto. pp. 221-223. SAGAR. Chihuahua, México.
- Roelofs, J., F. López-Gatius, R.H.F. Hunter, F.J.C.M. Van Eerdenburg, and Ch. Hanzen. 2010. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology* 74: 327-344.
- Roelofs, J., Graat, E.A., Mullaart, E., Soede, N.M., Voskamp-Hankema, W., Kemp, B. 2006. Effects of insemination-ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. *Theriogenology* 66: 2173-2181.
- Russell, N.D., J. Rios, J. Erosa, M.D. Remmenga, D.E. Hawkins. 2000. Genetic differentiation among geographically isolated populations of Criollo cattle and their divergence from other *Bos taurus* breeds. *J. Anim. Sci.* 78: 2314-2322.
- Sá Filho M.F., H. Ayres, R.M. Ferreira, M.O. Marques, E.L. Reis, R.C.P. Silva, C.A. Rodrigues, E.H. Madureira, G.A. Bó and P.S. Baruselli. 2010a. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. *Theriogenology*. 73:651-658.
- Sá Filho O.G., C.C. Dias, G.C. Lamb and J.L.M. Vasconcelos. 2010b. Progesterone-based estrous synchronization protocols in non-suckled and suckled primiparous *Bos indicus* beef cows. *Anim. Reprod. Sci.* 119: 9-16.
- Sartori, R., and C.M. Barros. 2011. Reproductive cycles in *Bos Indicus* cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 125: 244-250.

- Sartori, R., P.M. Fricke, J.C.P. Ferreira, O.J. Ginther, and M. C. Wiltbank. 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol. Reprod.* 65: 1403-1409.
- Savio, J.D., L. Keenan, M.P. Boland, and J.F. Roche. 1988. Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fertil.* 83: 663-671.
- Schneider, F.A., and D. M. Hallford. 1996. Use of a rapid progesterone radioimmunoassay to predict pregnancy and fetal numbers in ewes. *Sheep and Goat Research Journal* 1: 33-38.
- SDR. Secretaría de Desarrollo Rural. 2007. Informe estadístico de la movilización de ganado en el estado de Chihuahua 1998-2007. Área de informática y estadística ganadera. Chihuahua.
- Sirosis, J., and J.E. Fortune. 1988. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.* 39: 308-317.
- Souza A.H., S. Viechnieski, F.A. Lima, F.F. Silva, R. Araújo, G.A. Bo, M.C. Wiltbank and P.S. Baruselli. 2009. Effect of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. *Theriogenology*. 72: 10-21.
- Torres, J.F., J.A. Ramírez, F.A. Rodríguez, A. Flores, and J.A. Jiménez. 1997. Respuesta al Sincromate-B en tres diferentes estadios del ciclo estral en vacas Criollas (Rodeo) de Chihuahua y Hereford. *Memorias del XXVI Reunión de la Asociación Mexicana de Producción Animal*. pp. 117-119. Universidad Autónoma Chapingo, México.
- Torres-Simental, J. F., J. A. Ramírez-Godínez, F. A. Rodríguez-Almeida, A. Flores-Marileñarena y J. A. Jiménez. 1997. Respuesta al Sincromate-B en tres diferentes estadios del ciclo estral en vacas Criollas (Rodeo) de Chihuahua y Hereford. *Memoria del XXVI Reunión de la Asociación Mexicana de Producción Animal*. 21-24 de mayo. Universidad Autónoma de Chapingo, México.
- Townson, D.H., P.C.W. Tsang, W.R. Butler, M. Frajblat, L.C. Griel, C.J. Johnson, R.A. Milvae, G.M. Niksic, and J.L. Pate. 2002. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 80: 1053-1058.
- Vasconcelos, J.L., R. Sartori, H.N. Oliveira, J.G. Guenther, and M.C. Wiltbank. 2001. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology* 56: 307-314.

- Weems, C.W., Y.S. Weems, and R.D. Randel. 2006. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *Vet. J.* 171: 206-228.
- Whittier, J. C., G. H. Deutscher and D. C. Clanton. 1986. Progestin and prostaglandin for estrous synchronization in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 63: 700-704.
- Wiltbank, J.N., R.P. Shumway, W.R. Parker, and D.R. Zimmerman. 1967. Duration of estrus, time of ovulation and fertilization rate in beef heifers synchronized with dihydroxyprogesterone acetophenide. *J. Anim. Sci.* 26: 764-767.
- Wiltbank, M.C., R. Sartori, M.M. Herlihy, J.L. Vasconcelos, A.B. Nascimento, A.H. Souza, H. Ayres, A.P. Cunha, A. Keskin, J.N. Guenther, and A. Gumen A. 2011. Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 76: 1568-1582.
- Wolfenson, D., W.W. Thatcher, L. Badinga, J.D. Savio, R. Meidan, and B. J. Lew. 1995. Effects of heat stress on follicular development during the oestrous cycle in lactating dairy cattle. *Biol. Reprod.* 52:1106-1113.
- Zalkovic, P., M.A. MacLean, and D.J. Ambrose. 2001. A simple procedure to secure an indwelling jugular vein catheter to the neck of cattle for repeated blood sampling. *Can. Vet. J.* 42: 940-942.
- Zárate, J. P. 2008. Alternativas de manejo y uso de CIDR, Progesterona, β -estradiol y PGF $_{2\alpha}$ para la sincronización del estro en vacas criollas de rodeo. Disertación de Doctor in Philosophia. Facultad de Zootecnia y Ecología. Universidad Autónoma de Chihuahua, México.
- Zárate-Martínez, J.P., J.A. Ramírez-Godínez, and F.A. Rodríguez-Almeida. 2006. Estrus synchronization and fertility in Creole cows treated with CIDR, progesterona, β -estradiol and PGF $_{2\alpha}$. *J. Anim. Sci.* 84: suppl. 2, 154.
- Zárate-Martínez, J.P., J.A. Ramírez-Godínez, and F.A. Rodríguez-Almeida. 2010. Comportamiento reproductivo de vacas Criollas con amamantamiento restringido y sincronización del estro. *Agronomía Mesoamericana* 21: 121-130.
- Zieba, D. A., M. Amstalden and G. L. Williams. 2005. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: A comparative review. *Dom. Anim. Endocrinology.* 29:166-185.