



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ciencias Naturales  
Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE  
ESTRADIOL EN SINCRONIZACIÓN DE CELOS CON  
PROSTAGLANDINA F2 $\alpha$  EN GANADO LECHERO

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Maestro en Salud y Producción Animal Sustentable.

Presenta

MVZ. Martín Andrés López Padilla

Dirigido por

Dr. Luis Javier Montiel Olguín

Centro Universitario

Querétaro, Qro.

Fecha

México



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ciencias Naturales  
Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ESTRÓGENOS EN SINCRONIZACIÓN  
DE CELOS CON PROSTAGLANDINAS EN BOVINOS HOLSTEIN

Tesis Individual

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestro en Salud y  
Producción Animal Sustentable.

**Presenta:**

MVZ. Martín Andrés López Padilla

**Dirigido por:**

Dr. Luis Javier Montiel Olguín

**SINODALES**

Dr. Luis Javier Montiel Olguín  
Presidente

\_\_\_\_\_  
Firma

Dr. Héctor Raymundo Vera Ávila  
Secretario

\_\_\_\_\_  
Firma

M.C. Ma. De Jesús Chávez López  
Vocal

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Marina Aguilar Durán  
Vocal

\_\_\_\_\_  
Firma

M.C. José Eduardo Salazar Vázquez  
Vocal

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Dra. Juana Elizabeth Elton Puente  
Directora de la Facultad de  
Ciencias Naturales

\_\_\_\_\_  
Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña  
Directora de Investigación y  
Posgrado

Centro Universitario  
Querétaro, Qro.  
Fecha  
México

## RESUMEN

En México, más del 78% de la producción de leche se lleva a cabo bajo el sistema de producción familiar. Este sistema enfrenta problemas de manejo y económicos, aunado a una gran carga laboral (problemas logísticos). Uno de los aspectos más importantes en el sistema es el manejo reproductivo. El tratamiento hormonal de menor costo para la sincronización de estros es la doble aplicación de prostaglandinas con el inconveniente de una alta dispersión. Algunos estudios han demostrado que la administración de estrógenos afecta las oleadas de desarrollo folicular. Por lo tanto, en el presente estudio se plantea un protocolo combinando prostaglandinas y estrógenos para disminuir la dispersión de estros. Para este experimento, se utilizó benzoato de estradiol para sincronizar las oleadas foliculares. En un grupo de 50 vacas clínicamente sanas, el tratamiento utilizado fue una aplicación de prostaglandina F2 $\alpha$  al día 47.03 $\pm$ 0.98 postparto. Al día 54.03 $\pm$ 0.98 postparto se aplicó benzoato de estradiol. Finalmente, al día 61 $\pm$ 0.98 postparto se aplicó prostaglandina F2 $\alpha$ . En el grupo control, se siguió el mismo calendario sin aplicar benzoato de estradiol. A un subgrupo de 14 vacas se le realizaron estudios ultrasonográficos para evaluar las oleadas foliculares. Al finalizar el tratamiento, se realizó detección de estros cada seis horas durante seis días. Mientras que al grupo donde se evaluaron las oleadas foliculares, se realizó una lectura ultrasonográfica cada 12 horas. Al detectar a una vaca en estro, se realizó inseminación artificial siguiendo la regla am-pm. El diagnóstico de gestación fue 45 días después de la inseminación artificial. Los resultados indicaron que el benzoato de estradiol sincroniza una oleada folicular observable al día cuatro postaplicación (P<0.05). El tratamiento no afectó la dispersión de estros (rango 108-114 horas; P=0.88). La tasa de concepción tampoco se vio afectada (P=0.91). Sin embargo, las vacas tratadas con benzoato de estradiol presentaron estro franco 16.5 $\pm$ 1.2 horas antes (P=0.02). En conclusión, el benzoato de estradiol sincroniza una oleada folicular cuatro días posteriores a su aplicación, el tratamiento no afecta la tasa de concepción y el estro franco se presenta antes en el grupo tratamiento. **Palabras clave:** Sistema familiar, sincronización de estros, estradiol

## ABSTRACT

In Mexico, more than 78% of milk production takes place under the family production system. This system faces management and economic problems, coupled with a heavy workload (logistical problems). One of the most important aspects in the system is reproductive management. The cheapest hormonal treatment for estrous synchronization is the double application of prostaglandins with the disadvantage of high dispersion. Some studies have shown that estrogen administration affects surges of follicular development. Therefore, in the present study a protocol is proposed combining prostaglandins and estrogens to reduce the spread of estrous. For this experiment, estradiol benzoate was used to synchronize the follicular waves. In a group of 50 clinically healthy cows, the treatment used was an application of prostaglandin F2 $\alpha$  at day 47.03 $\pm$ 0.98 postpartum. On day 54.03 $\pm$ 0.98 postpartum, estradiol benzoate was applied. Finally, at day 61 $\pm$ 0.98 postpartum, prostaglandin F2 $\alpha$  was applied. In the control group, the same protocol was followed without applying estradiol benzoate. A subgroup of 14 cows underwent ultrasonographic studies to evaluate follicular waves. At the end of the treatment, estrus detection was performed every six hours for six days. While the group where the follicular waves were evaluated, an ultrasound reading was performed every 12 hours. When detecting a cow in estrus, artificial insemination was performed following the am-pm rule. The pregnancy diagnosis was 45 days after artificial insemination. The results indicated that estradiol benzoate synchronized a follicular surge detectable at day four post-application ( $P < 0.05$ ). The treatment did not affect the dispersion of estrus (108- 114 hours;  $P = 0.88$ ). Also, the conception rate was not affected ( $P = 0.91$ ). However, the cows treated with estradiol benzoate showed standing estrus on average 16.5 $\pm$ 1.2 hours before the control group ( $P = 0.02$ ). In conclusion, estradiol benzoate synchronizes a follicular wave four days after its application, the treatment does not affect the conception rate and standing estrus occurs earlier in the treatment group.

**Keywords:** Family system, estrus synchronization, estradiol

## **Dedicatorias**

Dedico esta tesis a mis amigos Andrea, Edwin y Juan Carlos quienes siempre han sido de gran apoyo durante toda mi vida profesional.

A mis padres Esthela y Martín por haberme apoyado siempre en todos mis proyectos y a veces hasta caprichos.

A mis hermanos Yocelin y Ruben por apoyarme todo el tiempo.

A todos mis maestros, por su paciencia y por siempre estar para ayudarme tanto en el aula como en mi vida personal.

A la familia López Villegas, por haber confiado en mí como profesional y haber hecho posible gran parte del experimento de esta tesis.

Al Dr. Juan Mosqueda, le agradezco de manera muy especial por todos estos años de aguantarme y haberme convencido de estudiar esta maestría.

A la Dra. Marichuy, tampoco tengo como agradecerle su ayuda en estos años de veterinario.

Al Dr. Luis y el Dr. Vera, por haberme guiado en estos 2 años de maestría y convertirse en nuevos amigos míos.

Para todos ellos es esta tesis, pues es a ellos a quienes debo que hoy se termine este proyecto, muchas gracias por todo su apoyo.

## **Agradecimientos**

A la Facultad de Ciencias Naturales

Al Dr. Luis Javier Montiel Olguín

Al Dr. Héctor Raymundo Vera Ávila

A mis asesores, la Dra. Ma. De Jesús Chávez López, a la Dra. Marina Aguilar Durán y al Dr. José Eduardo Salazar Vázquez

A la Universidad Autónoma de Querétaro y al CONACYT por apoyar mis estudios de Maestría

A mis compañeros de la maestría.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## Índice

<b>RESUMEN</b> .....	<b>III</b>
<b>SUMMARY</b> .....	¡Error! Marcador no definido.
<b>Dedicatorias</b> .....	<b>VI</b>
<b>Agradecimientos</b> .....	<b>VIV</b>
<b>Índice</b> .....	<b>V</b>
<b>Índice de Cuadros</b> .....	<b>IXI</b>
<b>Índice de Figuras</b> .....	<b>VII</b>
<b>I. Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>II. Antecedentes</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1 Importancia de la producción de leche en México</b> .....	<b>3</b>
<b>2.2 Producción de leche a pequeña escala</b> .....	<b>5</b>
<b>2.3 Fisiología reproductiva</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3.1 Ciclo Estral</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3.2 Proestro</b> .....	<b>7</b>
<b>2.3.3 Estro</b> .....	<b>7</b>
<b>2.3.4 Metaestro</b> .....	<b>8</b>
<b>2.3.5 Diestro</b> .....	<b>8</b>
<b>2.4 Eje hipotálamo-hipófisis-ovario</b> .....	<b>100</b>
<b>2.5 Desarrollo folicular</b> .....	<b>150</b>
<b>2.5.1 Dinámicas Foliculares</b> .....	<b>11</b>
<b>2.5.2 Desarrollo del cuerpo lúteo</b> .....	<b>164</b>
<b>2.5.3 Regresión del cuerpo lúteo</b> .....	<b>164</b>

<b>2.6 Manejo reproductivo de la vaca Holstein.....</b>	<b>15</b>
2.6.1 Estro y servicio .....	15
2.6.2 Periodo de espera voluntario.....	16
<b>2.7 Sincronización del estro .....</b>	<b>156</b>
2.7.1 Sincronización del estro con prostaglandinas.....	17
2.7.2 Uso de estradiol E2 en la sincronización de las oleadas foliculares .....	18
<b>III. Justificación.....</b>	<b>19</b>
<b>IV. Hipótesis .....</b>	<b>20</b>
<b>V. Objetivos .....</b>	<b>211</b>
5.1 Objetivo general .....	211
5.2 Objetivos particulares.....	211
<b>VI. Metodología .....</b>	<b>222</b>
6.1 Animales y manejo .....	222
6.2 Tratamientos .....	232
6.3 Detección de estros.....	253
6.4 Inseminación Artificial y Diagnostico de gestación .....	244
6.5 Ultrasonografía .....	244
6.6 Muestras de sangre .....	255
6.4 Análisis estadístico .....	245
<b>VII. Resultados y Discusión.....</b>	<b>256</b>
<b>VIII. Conclusiones.....</b>	<b>34</b>
<b>IX. Referencias .....</b>	<b>36</b>



## Índice de Cuadros

Cuadro	Página
1 Distribución de la presencia de estros posterior a la aplicación de prostaglandina F <sub>2</sub> $\alpha$	18

Dirección General de Bibliotecas UNQ

## Índice de Figuras

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	<b>Producción de leche 2010-2018</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>Producción de nacional contra importaciones de leche en polvo, Enero- Diciembre 2018</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>Ciclo estral bovino</b>	<b>8</b>
<b>4</b>	<b>Desarrollo de las oleadas foliculares y secreción de gonadotropinas durante el ciclo estral con 2 y 3 oleadas</b>	<b>13</b>
<b>5</b>	<b>Esquema de trabajo del grupo tratado con BE benzoato de estradiol y el grupo control donde no se aplicó</b>	<b>23</b>
<b>6</b>	<b>Esquema de trabajo del experimento de ultrasonografía BE benzoato de estradiol</b>	<b>25</b>
<b>7</b>	<b>Efecto del Benzoato de estradiol sobre la sincronización de oleadas de desarrollo folicular</b>	<b>27</b>
<b>8</b>	<b>Barras de erros entre el grupo tratado E2 y el grupo control PG</b>	<b>28</b>

## I. Introducción

En México la producción de leche se lleva a cabo bajo tres sistemas de producción claramente identificados; sistema intensivo, sistema de doble propósito y sistema familiar (García *et al.*, 1998; Vera *et al.*, 2009). El sistema con mayor potencial de crecimiento productivo dadas las características de los hatos y su estado actual es el sistema familiar (García *et al.*, 2017). Las unidades de producción bajo el sistema familiar son heterogéneas y hay reportes que indican que operan bajo deficientes procesos productivos (Vera *et al.*, 2009). Por ejemplo, estudios recientes indican que los días a primer servicio están más allá del óptimo sugerido para este sistema (Montiel-Olguín *et al.*, 2019). Aunado a esto, reportes sugieren que el anestro posparto no es un problema grave en estos establos (Estrada *et al.*, 2012). Por lo tanto, la detección de estros pudiera ser el factor clave en los días a primer servicio tardíos (Estrada *et al.*, 2012; Montiel-Olguín *et al.*, 2019).

En establos intensivos se ha implementado el uso de protocolos de sincronización de ovulación para compensar las deficiencias en la detección de estros y brindar los servicios a tiempo fijo, por ejemplo, con el protocolo Ovsynch y G6G (Willbank y Pursley, 2014). Sin embargo, el costo que representa su implementación es limitativo para las unidades de producción familiar principalmente por el costo de las dosis de GnRH (Ricci *et al.*, 2020). Además, aunque existen protocolos para la sincronización de estros, los cuales son más económicos (dos dosis de agentes luteolíticos a intervalo de 14 días), son también dependientes de la detección visual, con el inconveniente adicional de que las vacas tratadas presentan una dispersión importante en la manifestación de estros. Una forma de reducir esta dispersión pudiera ser sincronizando una oleada de desarrollo folicular aplicando benzoato de estradiol (BE), que además es más económico que la GnRH (Bó *et al.*, 1995). Hay reportes que indican que el BE ocasiona regresión de los folículos en crecimiento con el subsecuente surgimiento de una nueva oleada

de desarrollo folicular de 3 a 5 días después de la administración (Bó *et al.*, 1994). Sin embargo, estos estudios fueron realizados en otros países y en otros sistemas de producción (mayores producciones o vacas en pastoreo). Por lo tanto, se desconoce si la dosis utilizada en esos estudios ejerce el mismo efecto en vacas bajo el sistema familiar las cuales cuentan con menores producciones y son mantenidas bajo constantes deficiencias nutricionales.

El objetivo del presente estudio fue desafiar el efecto de la aplicación de benzoato de estradiol, con la finalidad de sincronizar una oleada de desarrollo folicular, determinar el tiempo de ovulación al terminar el tratamiento, evaluar la dispersión de estros y obtener la tasa de preñez en los animales que integraron este experimento.

## II. Antecedentes

### 2.1 Importancia de la producción de leche en México

La ganadería en nuestro país es una fuente económica importante que contribuye entre el 21 y el 24% del PIB agrícola nacional, ocupa alrededor de 110 millones de hectáreas y genera 4.2 millones de empleos directos y más de 13 millones de forma indirecta (García, 2011). La ganadería lechera nacional tiene un inventario aproximado de 2, 457,683 cabezas (INEGI 1991; SAGARPA 2016). Sin embargo, la producción por animal es muy baja, lo que provoca un déficit y la consecuente dependencia de la importación desde otros países. Se estima que la población mundial consume anualmente alrededor de 500 millones de toneladas de leche de las cuales el 85% es producido por bovinos (Villareal *et al.*, 1998; SE 2012).

En México la producción de leche de bovino es heterogénea por el nivel tecnológico, por la agroecología y por el estado socioeconómico (García *et al.*, 2007). Además, la fabricación de productos lácteos es la tercera rama más importante dentro de la industria de alimentos en México. En 2017 la producción de leche de bovino alcanzó 11 mil 807 millones de litros, es decir 1.7% más que en 2016 y se estima que para el 2018 esta cifra aumentara 1.7% con respecto al año anterior, con las consecuentes proyecciones de incrementos anuales hasta 2021 (SIAP, 2019). En la figura 1 se muestra la producción de leche anual en México hasta el año 2018 (SIAP 2019).



Figura 1. Producción de leche 2010-2018. Fuente: SIAP 2019

Al considerar el grado de tecnificación de las unidades de producción lecheras, destaca que el nivel de inversión es más alto en las que operan con una mayor tecnificación (García *et al.*, 2007). Esto está relacionado positivamente con un menor impacto en los costos de producción (economía de escala), entre los que se incluyen: costos de alimentación, gastos generales, depreciaciones, pago de impuestos y gastos financieros, principalmente. En contraste, en las unidades de producción de menor tecnificación, el mayor impacto en costos corresponde a la alimentación y mano de obra, con menor impacto por costos por servicios financieros (SAGARPA 2017).

El sector más importante de las importaciones en México es la leche en polvo, mediante el cual se cubren los requerimientos complementarios de la industria de leche y derivados lácteos. En el año 2006, se importaron 143 mil 529 toneladas; para 2017 la cifra fue de 327 mil 97 toneladas, lo que significa un aumento de 128% en doce años. Respecto a 2016 el volumen es superior en 11.7 por ciento. En la

Figura 2 se muestra la relación de producción contra la importación de leche en polvo de Enero a Diciembre de 2018 (SAGARPA 2017., SIAP 2019).

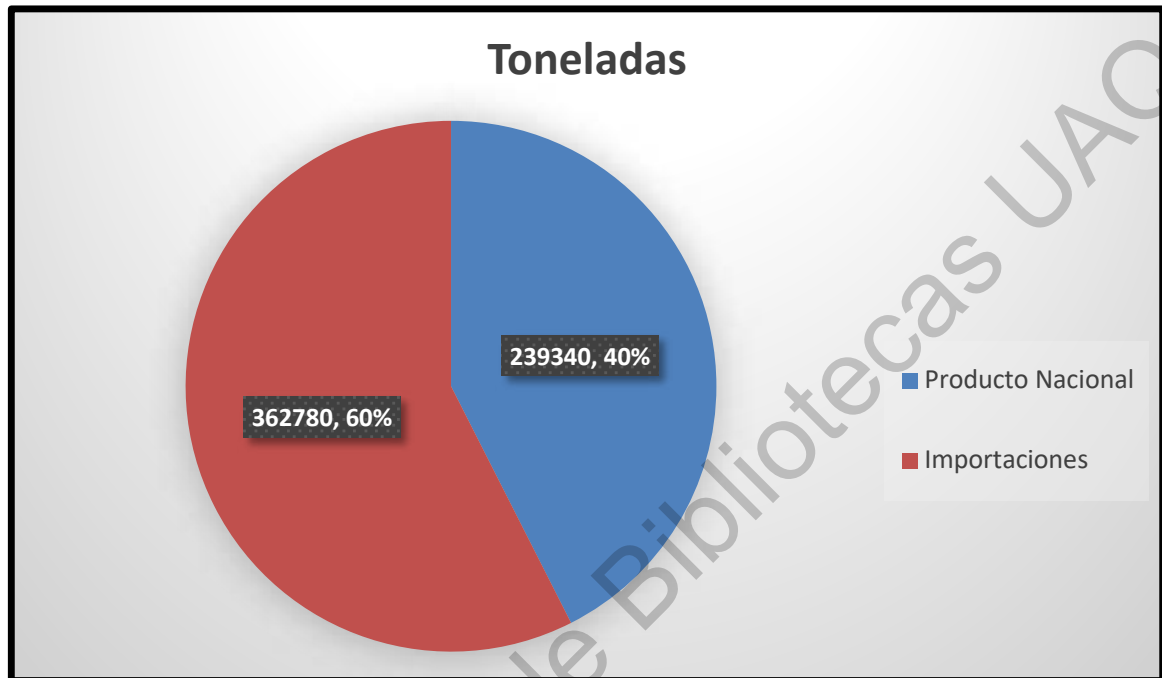


Figura 2.- Producción nacional contra importaciones de leche en polvo Enero-Diciembre 2018. Fuente: [www.infosiap.siap.gob.mx](http://www.infosiap.siap.gob.mx)

## 2.2 Producción de leche a pequeña escala

La producción de leche a pequeña escala tiene como objetivo generar empleo y consecuentemente ingresos para el hogar, orientando su producción hacia el mercado y la industria para su posterior comercialización. Este sistema de producción es una alternativa para fortalecer el crecimiento económico y contribuir a disminuir la pobreza en zonas rurales (Bennett et al., 2006). En México se estima que alrededor del 78% de los productores de leche cuenta con un hato de entre 3 y 30 animales sin incluir los reemplazos; aportando el 37% de la producción láctea en el país (Hemme 2007). Cuando se hace un análisis de costos en estas unidades de producción, la alimentación tiene costos variados que van desde un 52 hasta un 70%. Por otra parte, la mano de obra representa una ventaja ya que la misma familia

es el capital humano, con la principal ventaja de que el salario total es superior al de otros trabajos en la zona, dependiendo la rentabilidad del tamaño del hato (Posadas-Domínguez *et al.*, 2014).

De acuerdo con lo descrito por Martínez y colaboradores en el 2012, los sistemas a pequeña escala en México, a pesar de estar en esta clasificación son diferentes entre sí. Algunas diferencias que se encuentran son el nivel de educación de los productores, la implementación de cultivos en las tierras de su pertenencia, si son beneficiarios de algún programa de gobierno, el nivel socio económico, el uso de concentrados, las tecnologías que implementan en el hato y el tipo de ganado (aunque predominan razas lecheras especializadas, principalmente Holstein). Es por estas razones que la producción es heterogénea entre regiones, estados e incluso entre hatos vecinos. Posteriormente, Martínez y colaboradores en el 2014 reportaron que las técnicas que mayor adopción tiene son las que provocan un cambio a corto plazo. Esta característica cultural permitiría asegurar la implementación de estrategias con impacto inmediato como los son los protocolos para la manipulación del ciclo estral.

## **2.3 Fisiología reproductiva**

### **2.3.1 Ciclo Estral**

La hembra bovina presenta ciclos estrales cada 19 a 23 días; 21 días como tiempo promedio. La duración del estro o celo dura entre 10 y 18 horas, y estos solo se interrumpen durante la gestación, enfermedad o durante el anestro (Forde *et al.*, 2011). Algunos signos de celo pueden incluir movimiento frecuente, moco acuoso de la vulva, vocalizaciones y en general inquietud. Para su estudio, el ciclo estral se divide en 3 o 4 fases dependiendo del autor (Lamb *et al.*, 2010; Hernández, 2016).

#### Fase Folicular

- Proestro
- Estro



## Fase Lutea

- Metaestro
- Diestro

### 2.3.2 Proestro

Esta fase inicia con la regresión del cuerpo lúteo y finaliza con la presentación del estro o celo, con una duración de entre 2 y 3 días. La luteolisis o destrucción del cuerpo lúteo es inducida por la acción de la PGF2 $\alpha$  proveniente del útero. Esto provoca una caída en los niveles de progesterona, eliminando de esta manera el efecto de retroalimentación negativa sobre el hipotálamo. Por lo tanto, se genera un incremento en la frecuencia de pulsos de GnRH/LH lo cual permite el crecimiento terminal del folículo dominante para su posterior ovulación (Lamb *et al.*, 2010).

### 2.3.3 Estro

El estro se define como el periodo de actividad y receptividad sexual, en donde el principal signo es que la hembra al ser montada por otra permanece de pie y quieta (González *et al.*, 2001). Otros signos que se pueden apreciar son inquietud, inflamación de la vulva y secreción de moco limpio por la misma. La duración del estro puede variar de 30 minutos hasta 30 horas, pero lo más normal es una duración de entre 12 y 20 horas (Larson y Ball, 1992; Forde *et al.*, 2011).

Los signos de estro se presentan por efecto de la producción de estrógenos de origen folicular (folículo preovulatorio). Así mismo estos estrógenos permiten que se lleven a cabo contracciones en útero lo que favorece al transporte de espermatozoides. De igual manera, estos estrógenos tienen la capacidad de inducir la liberación del pico preovulatorio de GnRH del hipotálamo lo que provoca una liberación fásica de FSH y LH (Yen *et al.*, 1971, Rippe, 2009). El proceso de ovulación comienza con el aumento de LH que se da simultáneamente con los signos de celo. Las hormonas LH y FSH participan en la ovulación y formación de tejido lúteo como se muestra en la figura 3 (Wiltbank *et al.*, 2011).

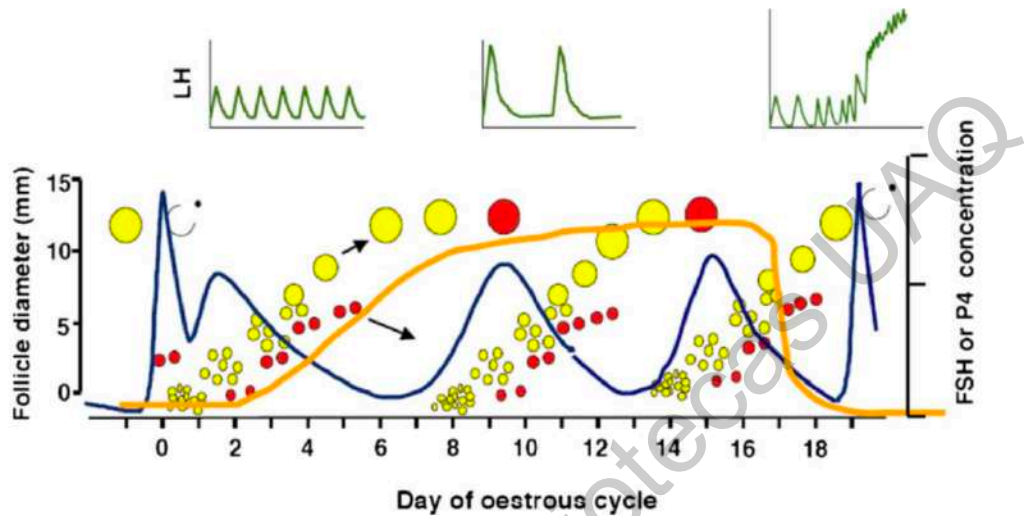


Figura 3. Ciclo estral bovino. Fuente: Forde *et al.* 2011.

### 2.3.4 Metaestro

Después de 12 a 24 horas que comenzó el estro, el sistema nervioso central se hace resistente a los estrógenos y consecuentemente la manifestación del celo desaparece (Chenault *et al.*, 1974; Forde *et al.*, 2011). Es aquí donde inicia la fase de metaestro con una duración de 3 a 5 días. Es en esta etapa del ciclo estral ocurre la ovulación en el bovino y se da de 10 a 15 horas después de que desaparecen los signos de estro. Posterior a la ovulación, se desarrolla el cuerpo hemorrágico a partir de las células de la granulosa del folículo (Richards 2007). Estas células se luteinizan con el pico preovulatorio de LH, estos cambios ocurren entre el día cinco y siete del ciclo. Con la formación del cuerpo luteo termina la fase de metaestro; Figura 4 (Forde *et al.*, 2011; Schams *et al.*, 1977)

### 2.3.5 Diestro

Esta fase se caracteriza por la presencia del cuerpo lúteo maduro en el ovario y por la producción de progesterona. Esta etapa es regulada por las secreciones de la adenohipófisis, útero, ovario y la presencia/ausencia de un embrión (Lamb *et al.*, 2010). Esta fase comprende entre el día 5 al 18 del ciclo estral. La regulación de la

secreción de progesterona está controlada por dos estímulos: uno luteotrópico o que estimula la secreción de progesterona al inicio de la fase lútea y otro luteolítico en caso de que no haya gestación deteniendo la producción de progesterona (Hansel *et al.*, 1983; Richards 2007). La hormona LH que es considerada primariamente luteotrópica y la concentración de receptores a la LH están directamente relacionados con los cambios en los niveles de progesterona y el crecimiento del cuerpo lúteo en el ovario (Hansel & Convey, 1983).

La función del cuerpo lúteo es producir suficiente progesterona a lo largo del diestro o para mantener la gestación. Esto ocurre si dentro de los primeros 16 días un producto se encuentra en el útero, éste producirá una señal de reconocimiento materno llamado *interferon tau*. Si la señal no es detectada, comienza el proceso de luteólisis mediada por la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  producida en el mismo útero. La PGF<sub>2</sub> $\alpha$  es transportada a contracorriente por la vena uterina y la arteria ovarica. Una vez se inicia la regresión del CL, las concentraciones de progesterona disminuyen, mientras que las concentraciones de estradiol comienzan a aumentar nuevamente (Lamb *et al.*, 2010, Forde *et al.*, 2011).

## 2.4 Eje hipotálamo-hipófisis-ovario

El hipotálamo se encuentra en la base del cerebro, éste está comunicado por el sistema porta hipotálamo-hipófisis; un sistema circulatorio especializado. Las neuronas localizadas en la zona ventromedial y preóptica del hipotálamo se encargan de secretar la hormona liberadora de gonadotropinas GnRH (Handa *et al.*, 2013). La GnRH llega a la hipófisis por el sistema porta hipotálamo-hipófisis y provoca la secreción de hormona luteinizante LH y de la hormona folículo estimulante FSH. La GnRH y la LH mantienen una secreción semejante en cuanto a amplitud y frecuencia se refiere, mientras que la FSH tiene un patrón de secreción basal alto y que se inhibe con el estradiol y la inhibina. (Handa *et al.*, 2013; Hanninem *et al.*, 2014)

El estradiol (E2), es una hormona que se produce por células de la granulosa de los folículos en el ovario y son responsables de la manifestación del estro. Los estrógenos tienen la capacidad de provocar tanto una retroalimentación positiva como una negativa de GnRH. Esto influenciado por la etapa del ciclo estral en que se encuentre el animal; en el anestro postparto los estrógenos provocan una secreción con baja frecuencia y alta amplitud de GnRH, mientras que en el proestro y el estro incrementan la frecuencia y disminuyen la amplitud (Plant 2015).

La progesterona es una hormona producida principalmente por el cuerpo lúteo (6-15 ng/ml) durante la fase lútea y durante toda la gestación y por la placenta a partir del día 120 produciendo una menor cantidad (1-4 ng/ml) (Bartolomé, 2009). La progesterona disminuye la secreción de GnRH así como la respuesta de la hipófisis a la GnRH, inhibiendo la maduración terminal folicular y la ovulación. Por otra parte, el útero es el encargado de secretar la prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) causante de la lisis del cuerpo lúteo (Davis *et al.*, 2002).

## 2.5 Desarrollo folicular

Durante el ciclo estral, los folículos del ovario se van desarrollando en forma sincrónica, a este proceso se le conoce como oleadas de desarrollo folicular cuyo

objetivo es la ovulación de un folículo maduro al finalizar un ciclo estral. Estas oleadas foliculares se encuentran reguladas por hormonas del sistema neuroendocrino; hipotálamo e hipófisis (Motta *et al.*, 2011). Los folículos del ovario generalmente se clasifican con base en sus características morfológicas, al diámetro del ovocito y del folículo y a la presencia o ausencia de cavidad antral llena de líquido. Generalmente se clasifican de la siguiente manera; como primordial, primario, secundario y terciario o preovulatorio (Adams, 2008). En los mamíferos, los únicos ovocitos disponibles para ser ovulados a partir de que el animal alcanza la pubertad es una reserva de ovocitos que han interrumpido su crecimiento en la etapa de folículo primordial. Éstos forman a la reserva ovarica y crecen de forma sincrónica durante toda la vida de la hembra iniciando desde la vida fetal en el bovino (Fortune, 2002).

### **2.5.1 Dinámicas Foliculares**

El folículo es considerado la unidad estructural y funcional del ovario, ya que tiene la capacidad de brindar un ambiente óptimo para el crecimiento y eventual ovulación del ovocito que contiene y la posterior formación de un embrión a partir de la fecundación (Fortune *et al.*, 2001). En las oleadas de desarrollo folicular se da un proceso selectivo, donde, en la especie bovina, generalmente un solo folículo adquiere dominancia mientras que los demás sufren un proceso de atresia mediada por apoptosis. La foliculogénesis inicia durante el estado fetal una vez formada la reserva ovárica inicial (folículos primordiales). Un folículo primordial está compuesto por un ovocito con crecimiento detenido o llamado en arresto meiotico en profase I (Driantcourt, 1991; Aers *et al.*, 2010).

En el ovario bovino, los folículos se reclutan de manera constante. Mediante el uso de ultrasonido se ha logrado demostrar que los folículos antrales crecen de manera cíclica en el bovino y se les ha descrito como oleadas foliculares, esta se define como el crecimiento sincrónico de un grupo de folículos (Driantcourt, 1991). Los folículos al ser reclutados se vuelven dependientes de gonadotropinas. En los

bovinos generalmente solo un folículo adquiere dominancia, el resto de folículos reclutados sufren atresia (Ginther *et al.*, 1996; Boni *et al.*, 1997).

En las vacas se da el caso que presentan dos oleadas de desarrollo folicular por ciclo estral mientras que otras pueden presentar hasta tres oleadas durante el ciclo estral. Estas oleadas foliculares afectan la duración del ciclo estral, siendo los ciclos de tres oleadas más largos que los de dos. El crecimiento de estas olas se puede clasificar en fases; reclutamiento, selección y dominancia (Lucy *et al.*, 1992; Forde *et al.*, 2011). Como se mencionó en mayor detalle anteriormente, el reclutamiento se da por los folículos que responden a gonadotropinas, la selección es la fase donde un solo folículo es capaz de evadir la atresia.

El surgimiento de una onda folicular depende de la concentración plasmática de FSH. En la figura 5 podemos observar un ciclo con dos oleadas contra uno de tres. Así mismo cuando los folículos comienzan a desarrollarse inician la producción de estradiol e inhibina los cuales tienen un efecto de retroalimentación negativa para FSH exclusivamente; los receptores para FSH se localizan en las células de la granulosa. La selección del folículo dominante comienza con el descenso de la FSH circulante durante los 3 primeros días de dicha onda por efecto de retroalimentación negativa (Fortune *et al.*, 2001). Las células de la granulosa y la teca del folículo que asume la dominancia comienzan a expresar receptores para LH. Éstos tienen la capacidad de continuar creciendo en el ambiente con bajas concentraciones de FSH. Los folículos subordinados sufren atresia por la ausencia de FSH que alcanza sus niveles más bajos en el día 4 de la onda folicular. Las vacas Holstein se caracterizan por reclutar un promedio de 25 folículos por onda y el folículo dominante cuenta con un diámetro de entre 11 y 12 mm (Adams *et al.*, 2008; Sirois y Fortune, 1988).

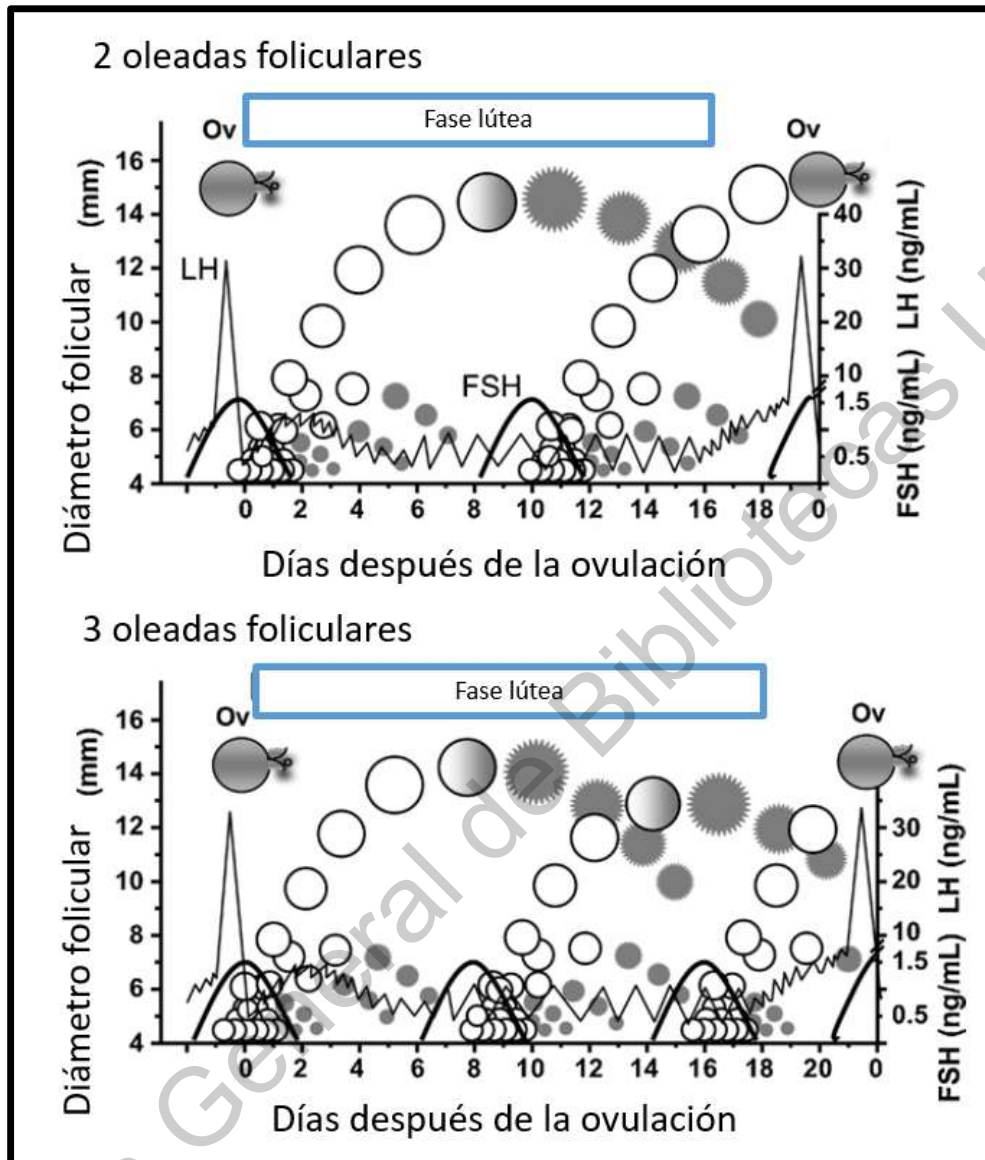


Figura 4. Desarrollo de las oleadas foliculares y secreción de gonadotropinas durante el ciclo estral con 2 y 3 oleadas. El folículo viable (Circular), estriado (folículo atrésico). La línea gruesa representa un incremento en FSH circulante que precede la emergencia de cada oleada. La línea delgada representa la LH que precede la ovulación. Previo al pico de LH se muestra el aumento en los pulsos de LH debido al descenso de la progesterona. Fuente: Andams 2008

### 2.5.2 Desarrollo del cuerpo lúteo

El cuerpo lúteo es una glándula temporal que se forma después de que el folículo ovulatorio libera al ovocito, por un proceso que se conoce como luteinización. La luteinización comienza antes de la ovulación a consecuencia de la elevación de las concentraciones preovulatorias de FSH y LH, siendo esta última la más importante para la ovulación del folículo y la posterior formación del cuerpo lúteo. Posterior a la ovulación (aproximadamente 30 hrs después del pico de LH), las células de la teca interna y la granulosa migran y ocupan el espacio que formaba anteriormente el folículo previo a la ovulación (Hernández *et al.*, 1998). Otro proceso que comienza a suceder después del pico de LH es la producción de androstenediona, mientras que el  $17\beta$  estradiol disminuyen, y comienza la producción de progesterona donde cuatro a cinco días después de la ovulación es posible encontrar concentraciones mayores a 1ng/ml y llega a alcanzar concentraciones de 6 a 15ng/ml durante el diestro (Bartolomé, 2009; Walter *et al.*, 1984). La progesterona es una hormona cuya función principal es la de preparar el aparato reproductor de la hembra para establecer y sostener la gestación. La progesterona evita contracciones del útero y aumenta la viscosidad del moco cervical, posteriormente induce el desarrollo de la glándula mamaria preparándola para la producción y secreción de leche (Hernández *et al.*, 1998).

### 2.5.3 Regresión del cuerpo lúteo

La regresión del cuerpo lúteo se puede dar por dos factores principalmente; que el ovocito no sea fecundado o que éste sea fecundado, pero muera tempranamente. Aproximadamente en el día 16 del ciclo estral el cuerpo lúteo inicia un proceso de regresión que se conoce como luteólisis. Este proceso es desencadenado por la secreción pulsátil de prostaglandina  $F2\alpha$  por parte del endometrio uterino. Los estrógenos ováricos provocan la secreción de  $PGF2\alpha$  la cual provoca una vasoconstricción en el endotelio vascular del cuerpo lúteo. Como consecuencia las células del cuerpo lúteo dispondrán de menos nutrientes, oxígeno



y colesterol necesarios para la esteroidogénesis (Silvia *et al.*, 1991; Davis *et al.*, 2002).

## **2.6 Manejo reproductivo de la vaca Holstein**

La importancia de la eficiencia reproductiva radica en su relación con el aumento en la rentabilidad de la unidad de producción. Los beneficios de un manejo reproductivo eficiente es la mejora en la productividad; este manejo permite implementar diferentes sistemas de mejoramiento genético, disminuyendo la carga de trabajo y mejorando la eficiencia reproductiva en general del hato (Cavestany, 2000).

### **2.6.1 Estro y servicio**

Generalmente se considera a la detección de celos como un factor de costo elevado y como un punto clave en las implementación de diferentes programas reproductivos. Una falla en este sistema conduce a pérdidas económicas debido a que se elevan los costos de producción a causa de un mayor intervalo entre partos, pérdidas en producción de leche, etc. Numerosos factores tanto ambientales, de manejo, así como de la misma vaca repercuten en la expresión y detección de celos. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que el objetivo de la detección de celos es obtener una alta tasa de concepción (>50%) (Marini *et al.*, 2010).

La detección de estros es una actividad desafiante, ya que se estima que aproximadamente el 50% de las vacas presentara un celo franco, actualmente esta actividad se complementa con diferentes herramientas, sin embargo, entender e identificar mediante la observación cuando una vaca está en estro sigue siendo una actividad necesaria para una detección eficiente (Holman *et al.*, 2014). En la actualidad el manejo en los establos consiste en la observación y el complementando con diferentes técnicas como el uso de podómetros para monitorear la actividad, o el uso de detectores de monta como tarjetas o marcadores son algunos ejemplos (Roelofs y Kooij 2015). La inseminación artificial brinda

muchas ventajas, algunas de ellas son: el mejoramiento genético, la prevención de enfermedades y menores costos (más barata que comprar y mantener un semental de alto valor genético) (Lima *et al.*, 2014). Por otra parte, la principal desventaja pudiera ser que se requiere capacitación para llevarla a cabo de forma exitosa (Lima *et al.*, 2014). Esta técnica se ha llevado a cabo normalmente desde hace varios años con la regla A.M- P.M (Trimberger 1948). Estudios recientes observaron que desde el inicio del estro hasta la ovulación hay un lapso de tiempo en promedio de 29 hrs. (Yoshioka *et al.*, 2010).

### **2.6.2 Periodo de espera voluntario**

El periodo de espera voluntario se considera un manejo clave en cuanto a la designación de vacas a inseminar tomando en cuenta un determinado número de días para que una vaca reciba su primera inseminación (Miller *et al.*, 2007). El tiempo que transcurre desde el parto hasta la primera inseminación permite una correcta recuperación del tracto reproductivo de la vaca. Un factor a considerar en ganado lechero es que el índice de concepción aumenta conforme los días postparto aumentan, lo que pudiera estar relacionado con el potencial de producción de leche (Faust *et al.*, 1998). De cualquier manera, se recomienda un periodo de espera voluntario mayor a 60 días debido a que se estima que de 20 a 30% aún no han ovulado hasta este tiempo (Britt, 1974; Miller *et al.*, 2007). En los sistemas de producción de leche a pequeña escala, debido a la deficiente disciplina para llevar registros actualizados, el periodo de espera voluntario es muy variable. Incluso en algunas unidades de producción inexistente. Esta situación limita el potencial productivo y de rentabilidad en estas unidades de producción.

### **2.7 Sincronización del estro**

La identificación de las vacas en estro es sin duda la práctica más importante en el manejo de la reproducción del hato lechero. No obstante, los avances en los conocimientos de la fisiología de la reproducción a nivel celular y molecular, la identificación de las vacas en estro sigue siendo el problema reproductivo más importante y el que más pérdidas económicas provoca. La sincronización del estro

involucra el control o manipulación del ciclo estral con el propósito de que las hembras elegidas en un hato expresen estro en un tiempo similar. Es un manejo bastante utilizado en los programas de inseminación artificial, transferencia de embriones, concentraciones de partos y uso intensivo, por pocos días, de un toro con monta natural (Roelofs *et al.*, 2010). El uso de diferentes tecnologías como la inseminación artificial y los diferentes protocolos hormonales, representan un gasto elevado por los materiales requeridos incluido el costo del semen (Lima *et al.*, 2010), por lo que resulta complicado la implementación de protocolos complejos y por ende más caros en los sistemas de producción familiar, ya que como se mencionó antes programas de costo elevado no son bien adoptados.

### **2.7.1 Sincronización del estro con prostaglandinas**

Posterior a la aplicación de PGF2 $\alpha$  entre el día 5 y 18 del ciclo estral, se observará el celo de 2 a 7 días después de la aplicación (lo cual es un inconveniente; dispersión en estros), con una eficiencia del 90 a 95%. (Ferguson y Galligan, 1993). Las prostaglandinas no causarán luteolisis dentro de los primeros 5 días del ciclo estral. Esta es la base de la doble aplicación de PGF2 $\alpha$  en un intervalo de 14 días. Se estima que entre el 60 y 70% de vacas cicladas manifestarán estro durante los próximos 7 días después de la primera aplicación, lo cual es dependiente del estado de desarrollo en la oleada folicular en el momento de la aplicación de la prostaglandina (Odde, 1990).

**Cuadro 1. Distribución de la presencia de estros posterior a la aplicación de prostaglandina F2 $\alpha$**

Parámetro	Vacas	Vacas en estro	Detección de estro %	Días aplicación respuesta
Respuesta a 1ra aplicación	60	39	65	4.38
Respuesta a 2ra aplicación	21	15	71.4	4.6
Respuesta a 3ra aplicación	6	5	83.3	4.57

(González *et al.*, 2001).

### 2.7.2 Uso de estradiol E2 en la sincronización de las oleadas foliculares

En 1995 Gabriel Bo y colaboradores demostraron que el uso de E2 puede causar regresión de los folículo dominante de 3 a 5 días después de su aplicación. En este mismo estudio se observó que vacas tratadas con 2mg de benzoato de estradiol disminuyó los niveles de LH/FSH aproximadamente 30 minutos después de la aplicación con un subsecuente incremento de FSH entre el día 3 y 4 posterior a la aplicación de E2. El tiempo en que emerge la siguiente oleada folicular es en promedio 3.8 días en vacas con alta producción y 4.5 en vacas con menor producción. En otro experimento realizado igualmente por Bo y colaboradores en 1994 se observó que el folículo que adquiría la dominancia ovulaba en un diámetro entre 10.5 y 12cm, aproximadamente 3 días después en protocolos sin implante de progesterona.

### III. Justificación

La inseminación artificial es una biotecnología de uso común en la mayoría de las unidades de producción intensiva. Sin embargo, en los sistemas familiares existen problemas de logística y limitados recursos económicos que impiden su uso más generalizado. Por lo tanto, para este sistema de producción es necesario desarrollar protocolos de sincronización económicos, con buenas tasas de concepción y prácticos (como una alternativa viable al uso de GnRH/Ovsynch), pudiendo ser una opción el uso combinado de prostaglandinas y estradiol. El uso de un tratamiento combinando de agentes luteolíticos y benzoato de estradiol pudiera resultar en una opción viable para la sincronización de estros en ganado lechero en este sistema de producción. Sin embargo, la efectividad de este protocolo de manejo reproductivo para mejorar las tasas de concepción y reducir la dispersión de estros no ha sido desafiado aún el sistema familiar de producción de leche en México.

#### **IV. Hipótesis**

El grado de sincronía del estro franco y la tasa de concepción serán mayores en vacas sincronizadas con prostaglandina F2 $\alpha$  y estradiol que utilizando solo prostaglandina F2 $\alpha$ .

Dirección General de Bibliotecas UNO

## **V. Objetivos**

### **5.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto de la aplicación de benzoato de estradiol en un protocolo de sincronización de estros con prostaglandina F2 $\alpha$  sobre el grado de sincronía y la tasa de concepción en ganado lechero bajo el sistema familiar en México.

### **5.2 Objetivos particulares**

- Evaluar la efectividad del benzoato de estradiol para sincronizar el desarrollo de una oleada folicular en ganado bajo el sistema familiar.
- Determinar el grado de sincronía en la distribución de estros.
- Determinar la tasa de concepción al primer servicio postparto con el protocolo de prostaglandina F2 $\alpha$  y benzoato de estradiol.

## **VI. Metodología**

### **6.1 Animales y manejo**

El estudio se llevó a cabo en rancho San José de Ríos, en el municipio de San Luis de la Paz, en el estado de Guanajuato (21°13' N). El clima en la región es semiseco templado con temperatura mínima de -5°C, media de 18°C y máximo de 33°C y precipitaciones promedio anual de 300 a 700 mm. El estudio se llevó a cabo entre los meses de enero a diciembre de 2019.

Se utilizaron 99 vacas Holstein, con un promedio de 2.2 lactaciones. Una edad de  $3.5 \pm 3$  años, con condición corporal de  $2.83 \pm 0.35$  al momento de la primera aplicación de PG y con producción de 22 litros diarios en promedio. El alojamiento de los animales fue en corrales de tierra, con comederos de banqueta y sombra suficiente para todos los animales. En todo momento los animales tuvieron acceso a agua de bebida. La alimentación consistió en proporcionar una vez al día el alimento, teniendo como base ensilado de maíz y alfalfa. Sin embargo, también se proporcionaban forrajes de temporada como avena o brócoli cuando el precio de oportunidad estuvo presente. Como parte del manejo rutinario, al entrar las vacas a la sala de ordeña se proporcionó un alimento concentrado comercial de 18% de proteína cruda. La ordeña se realizó dos veces al día, a las 2 de la tarde y a las 3 de la mañana en una sala convencional operada manualmente. La limpieza de los corrales se realizó de dos a tres veces por semana. En cuanto a medicina preventiva se vacunó contra enfermedades clostridiales y brucelosis.

### **6.2 Tratamientos**

Los animales utilizados en el presente estudio fueron calificados como clínicamente sanos por el médico veterinario de la unidad de producción. Se dividieron en dos grupos de forma aleatoria; grupo control y grupo tratamiento. A las vacas del grupo control (n=49) se les aplicaron dos dosis de prostaglandina (Dinoprost trometamina, 25 mg/día, LUTALYSE, Novartis) a intervalo de 14 días. El



día 0 se consideró como el día en el que se aplicó la primera dosis luteolítica (PG1); los tratamientos iniciaron a los  $47 \pm 0.98$  días postparto. Los animales del grupo tratado (n=50) recibieron el mismo tratamiento hormonal que el grupo control más 2mg de benzoato de estradiol (EstroActive, Virbac) al día 7 (es decir, entre las dos dosis luteolíticas) como se muestra en la figura 5.

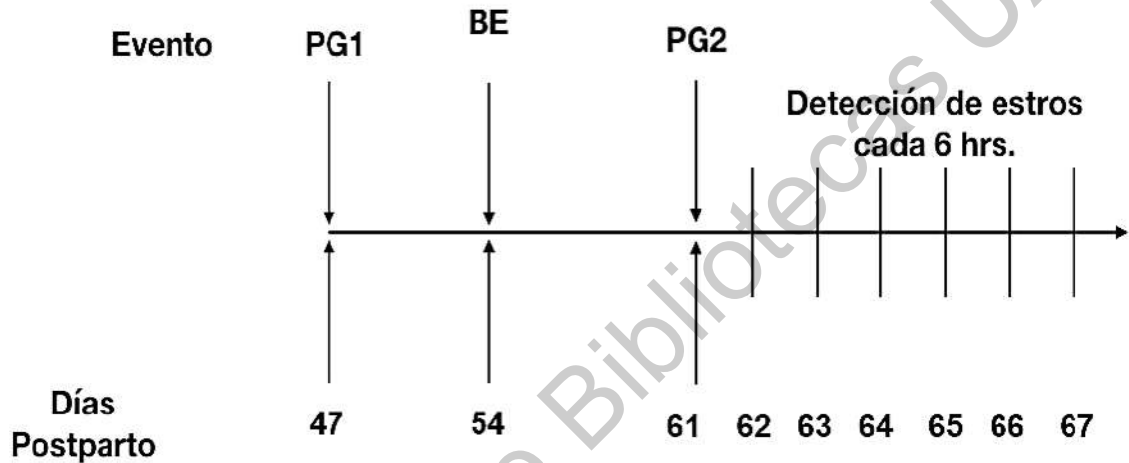


Figura 5. Esquema de trabajo del grupo tratado con BE benzoato de estradiol (el grupo control solo recibió las dos dosis luteolíticas). PG1, Primera aplicación de prostaglandina F2α; BE, Aplicación de benzoato de estradiol; PG2, Segunda aplicación de prostaglandina F2α.

### 6.3 Detección de estros

Se realizó detección de celos cuatro veces por día con un intervalo de 6 hrs. durante 30 min. a partir de la última aplicación de prostaglandina (PG2). El estro franco se determinó cuando fue observada la aceptación de monta por al menos cinco segundos de duración. Como apoyo para la detección de estros, se aplicó crayón para ganado en la parte superior de la cola al momento de la aplicación de PG2.

#### **6.4 Inseminación Artificial y Diagnóstico de gestación**

La inseminación artificial (IA) se llevó a cabo con la regla AM-PM. Las pajillas se descongelaron en agua con una temperatura de 35-37 °C durante 45 segundos. Como medida sanitaria se utilizaron camisas sanitarias para proteger la pistola de inseminación y prevenir la contaminación uterina. Siguiendo las recomendaciones estándar de la técnica de IA, el semen se depositó en el cuerpo del útero y fue llevada a cabo por el mismo técnico en todas las ocasiones. El diagnóstico de gestación se llevó a cabo mediante palpación rectal a los 45 días posteriores a la IA.

#### **6.5 Ultrasonografía**

Se realizaron estudios ecográficos vía transrectal en un grupo de 14 animales con la finalidad de monitorear el desarrollo folicular por efecto del benzoato de estradiol (E.I. Medical Imaging Ibex Pro). En cada una de las observaciones los ovarios fueron observados en al menos dos planos y se registraron folículos mayores de cinco mm, folículos mayores de 10 mm y se registró la presencia de cuerpo lúteo. El escaneado de las estructuras ováricas inició el día de la aplicación de BE y se realizaron mediciones posteriores cuatro y siete días después (tentativamente el inicio del crecimiento de la oleada folicular y al momento de PG2, respectivamente). Posteriormente se realizaron mediciones cada 12h a partir de PG2 hasta el momento de la ovulación (o hasta 132h) como se esquematiza en la figura 6.

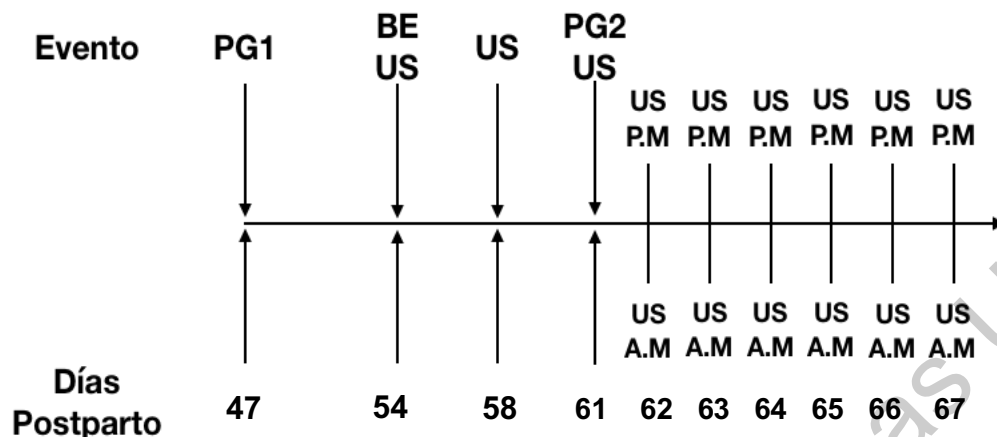


Figura 6. Esquema de trabajo del experimento de ultrasonografía BE benzoato de estradiol. US, lectura con ultrasonido; PG1, Primera aplicación de prostaglandina F2 $\alpha$ ; BE, Aplicación de benzoato de estradiol; PG2, Segunda aplicación de prostaglandina F2 $\alpha$ .

### 6.6 Muestras de sangre

Las muestras de sangre fueron tomadas en los días  $33 \pm 0.98$ ,  $47 \pm 0.98$  y  $61 \pm 0.98$  postparto, con la finalidad de detectar si los animales incluidos en el estudio se encontraban ciclando. Las muestras se tomaron por punción de la vena yugular con aguja estéril, colocándolas en tubos vacutainer sin aditivos. Las muestras se mantuvieron a 4°C para permitir la formación del coágulo. Al día siguiente se centrifugaron los tubos a 2000xG durante 10 min. El plasma se separó y se conservó a -20° C para su posterior análisis.

### Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con la versión 9.3 de SAS (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA). Para el diámetro mayor del cuerpo lúteo al momento de PG2 se utilizó el procedimiento GLM utilizando como única variable independiente a la respuesta a PG2. Para la variable dependiente diámetro del folículo mayor, se utilizó el procedimiento MIXED, con un diseño de mediciones

repetidas. Se incluyeron en el modelo las variables independientes tiempo, respuesta a PG y la interacción; las diferencias entre medias fueron determinadas con la opción PDIFF. Para determinar si hubo diferencias en la distribución de estros por efecto de tratamiento se utilizó la prueba de LEVENE. Posteriormente se realizó un análisis de varianza de un solo factor. Tomando como variable dependiente las horas posteriores a PG2 tanto en el grupo control como en el grupo tratado con BE. Para la tasa de concepción se utilizó la prueba de Chi2. El valor de significancia estadística se estableció a un valor de  $P < 0.05$  y como indicador de tendencia  $P < 0.1$ .

## VII. Resultados

Los resultados del análisis estadístico del experimento 1 indicaron que el diámetro del CL fue diferente ( $P < 0.05$ ) entre vacas que sí respondieron a PG2 comparado con las que no respondieron ( $30.8 \pm 3.2$  y  $17.4 \pm 4.3$  mm, respectivamente). En la figura 1 se muestran los resultados de la interacción tiempo x respuesta a PG2 sobre el diámetro del folículo de mayor tamaño ( $P = 0.01$ ). Los resultados indicaron diferencias entre grupos ( $P < 0.05$ ) que respondieron o no a la PG2 a los tiempos: momento de la aplicación del BE, +4, +7 y a las 96, 108 y 120h post PG2.

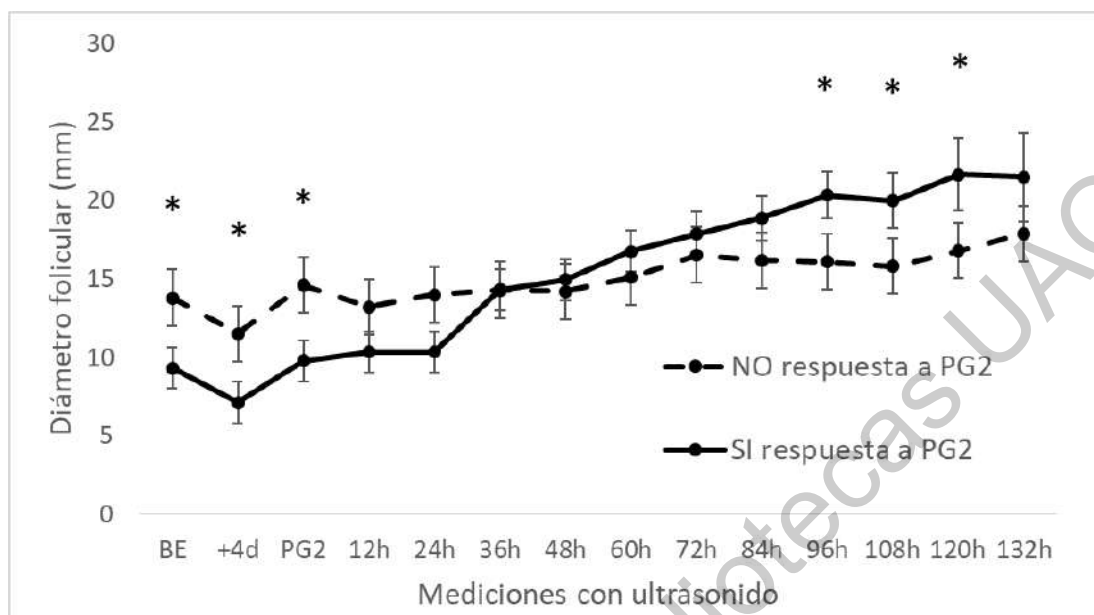


Figura 7. Efecto del Benzoato de estradiol sobre la sincronización de oleadas de desarrollo folicular. BE, benzoato de estradiol; +4d, día 4 después de la aplicación del BE; PG2, segunda prostaglandina del protocolo; h, horas; mm, milímetros. \* indica diferencias estadísticas  $P < 0.05$ .

Los resultados del análisis estadístico indicaron que no hay diferencias entre la varianza de ambos grupos (Figura 8;  $P = 0.88$ ). El efecto horas post PG2 fue significativo ( $P = 0.02$ ); la media en el grupo tratado fue de  $77.5 \pm 4.8$  horas, mientras que en el grupo control fue de  $93.5 \pm 4.8$  horas. No hubo diferencias estadísticas en la tasa de concepción entre grupos ( $P = 0.91$ ); 32 y 34%, para grupo control y tratado, respectivamente.

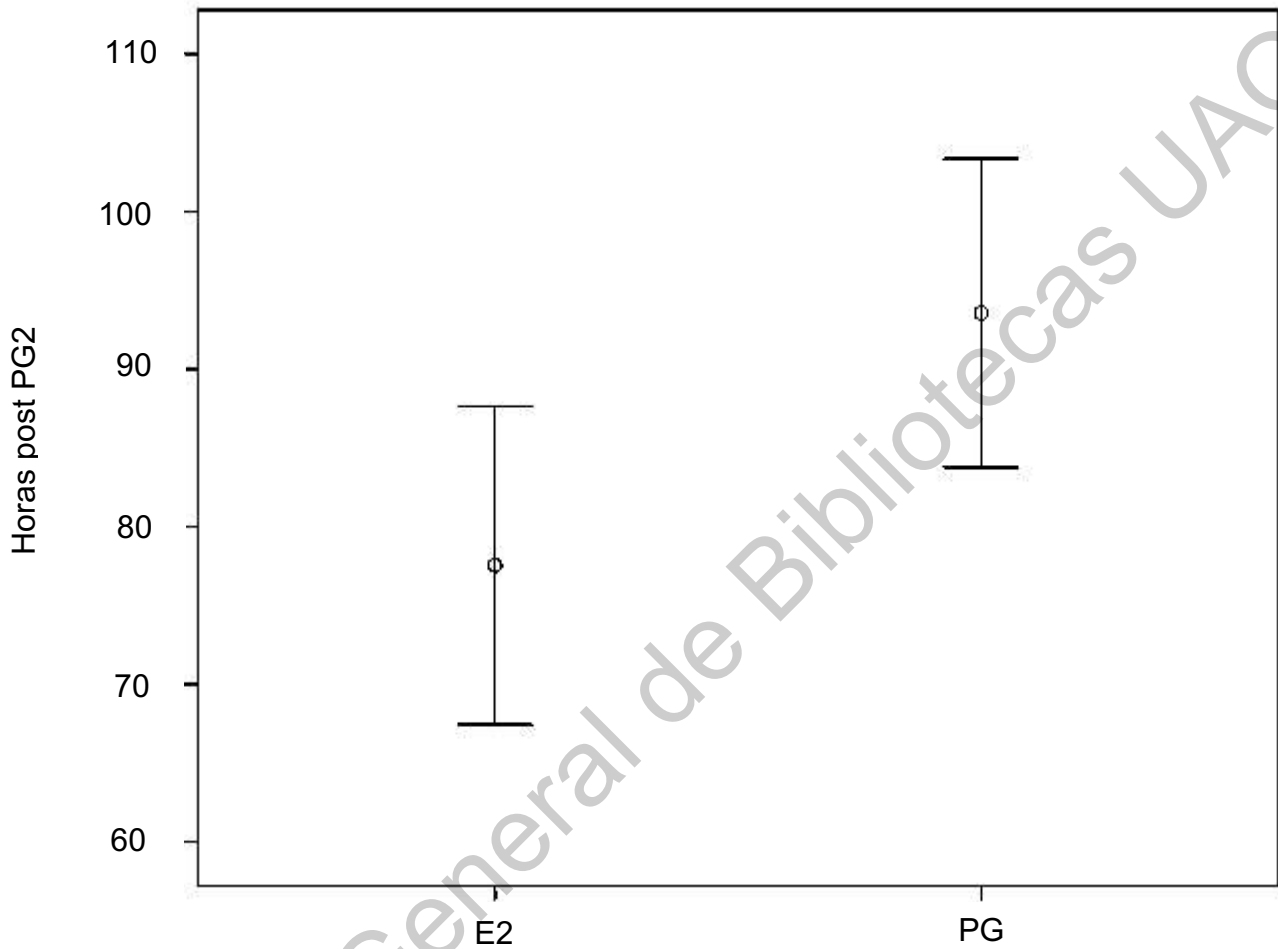


Figura 8. Barras de error entre el grupo tratado E2 y el grupo control PG.

Los resultados del análisis de chi cuadrada para la presencia de estro franco no fue significativo ( $P=0.82$ ), indicando que no existen diferencias entre grupos.

## VIII. Discusión

En el presente estudio encontramos a un grupo de vacas que no respondieron a PG2. Posteriormente, se encontró que el diámetro del CL al momento de aplicar la

PG2 fue menor en ese grupo, lo cual sugiere que las vacas de este grupo se encontraban probablemente en las etapas de proestro o metaestro (Forde *et al.*, 2011). Adicionalmente, este resultado sugiere que este grupo de vacas probablemente no respondió a PG1 (-7d) si estaban ciclando, o bien pudieron haber estado aún en anestro. Este hallazgo (no respuesta a PG2) permitió explicar las diferencias observadas en la interacción tiempo x respuesta a la PG2 sobre el diámetro del folículo con mayor diámetro. Al momento de la aplicación del BE y a los tiempos +4 y +7, las vacas que no respondieron a PG2 tuvieron un mayor diámetro folicular comparado con las vacas que sí respondieron. Sin embargo, a partir de las 96h posteriores a PG2 el diámetro de estos folículos no se incrementó y en promedio fueron menores. La explicación detrás de estos resultados es que no hubo un soporte de LH que permitiera el crecimiento terminal de los folículos debido a la presencia del cuerpo lúteo por efecto de la retroalimentación negativa de progesterona (Forde *et al.*, 2011).

Por otra parte, el BE sincroniza una oleada de desarrollo folicular disminuyendo los niveles circulantes de FSH induciendo atresia en los folículos presentes (Dierschke *et al.*, 1994), permitiendo así, el surgimiento de una nueva oleada de desarrollo folicular. Con relación a esto, en el grupo de vacas que respondieron a PG2, el diámetro folicular fue menor al momento de aplicar el BE comparado con las vacas que no respondieron. Además, al día +4 el diámetro de los folículos en estas vacas fue el de menor tamaño comparado con el resto de las mediciones. Lo cual sugiere que el BE disminuyó los niveles de FSH en estas vacas, induciendo en consecuencia atresia en esos folículos y permitiendo observar, cuatro días después, el crecimiento sincrónico de una nueva oleada de desarrollo folicular como ha sido reportado previamente en la literatura (Bo *et al.*, 1994). Posteriormente, en este grupo de vacas se observa que después de PG2 la tasa de crecimiento de estos folículos se incrementa, en comparación con la tasa de crecimiento observada en el otro grupo. Lo anterior debido al mayor soporte de LH que ocurre al retirar el efecto de retroalimentación negativa de progesterona. Estos resultados en conjunto

indican que el BE en la dosis utilizada tiene la capacidad para sincronizar una nueva oleada de desarrollo folicular. Sin embargo, el éxito de la respuesta depende de que los animales se encuentren ciclando y se encuentren en la etapa de diestro. Estos resultados justificaron la realización del segundo experimento con el objetivo de obtener información que permita obtener un protocolo de sincronización de estros que facilite la labor de detección de estros (y tal vez con una menor dispersión en las ovulaciones).

En el protocolo combinado de  $PGF2\alpha$  con BE se observa un crecimiento sincrónico de una oleada de desarrollo folicular observable al día 4 post BE, similar a lo que se observa en tratamientos combinando progesterona y BE (Bo et al., 1994). Debido a la necesidad de desarrollar un protocolo sencillo y práctico como se muestra en el diseño experimental en la figura 5, se decidió aplicar los medicamentos con una semana de diferencia, de tal manera que todo el manejo se realice el mismo día de la semana. Esto para favorecer en un futuro la posible adopción de esta tecnología, debido a que los productores tienen una tendencia a adoptar programas que sean de una implementación sencilla (Martínez et al 2014).

Si bien, la dosis de BE utilizada fue efectiva para sincronizar una oleada de desarrollo folicular, no encontramos diferencia entre grupos en cuanto a la dispersión en la manifestación de estro franco. Una posible explicación radica en el tiempo de crecimiento de los folículos bajo la influencia de progesterona y en la tasa de crecimiento (más acelerado) de los folículos posterior a PG2. De acuerdo con otros estudios, la variación de la presencia de estros posterior a la luteólisis, depende del estado de desarrollo de la oleada folicular (Ferguson y Galligan, 1993). Con el protocolo utilizado (0d PG1+7d BE+14d PG2), la oleada de desarrollo folicular tiene un inicio tres días antes de que se aplique PG2, lo cual pudiera ser muy corto, comparado con lo que ocurre en otros protocolos. Por ejemplo, comparado con lo que ocurre en el Ovsynch, el cual es de aproximadamente entre seis y ocho días (Pursley et al., 1995; Forde et al., 2011; Wiltbank et al., 2011). Por lo tanto, el tiempo en el protocolo aquí utilizado es relativamente corto



específicamente en el tiempo que pasa la oleada de desarrollo folicular bajo el efecto de la progesterona. Si bien, no se sabe si este efecto fue determinante para no encontrar diferencias en la dispersión de estros con nuestro protocolo, es un factor inherente que debe ser considerado en posteriores estudios. Por otra parte, después de PG2, al no existir progesterona que ocasione un efecto de retroalimentación negativa para LH, los folículos en el grupo de vacas tratadas pudieron tener una tasa de crecimiento más acelerada, efecto que ya ha sido reportado previamente (Goodman *et al.*, 2006), lo cual pudo haber influido en que la dispersión de estros no fuera diferente al observado en un protocolo convencional con doble aplicación de PGF2 $\alpha$  (González *et al.*, 2001).

Si bien, no queda claro por qué no hubo diferencias en la dispersión de estros, los resultados indicaron que, en el grupo con BE, el tiempo entre PG2 y la manifestación de estro franco fue 16 horas menor comparado con el grupo control. En estudios previos, se ha demostrado que los efectos del estradiol en el organismo son dependientes de la concentración que se puedan alcanzar a nivel plasmático (Goodman *et al.*, 2002). Un estudio realizado por Fábregues *et al.* (2009) encontraron que la administración de andrógenos (sustrato para la síntesis de estrógeno) aumenta el número de folículos reclutados al incrementar la sensibilidad para FSH en los folículos. Con base en esto, en nuestro caso se está administrando el estradiol de manera directa, es decir, el fármaco no necesita un proceso enzimático para en teoría tener un efecto similar. De manera normal en las células de la teca se sintetizan andrógenos y a partir de ellos se sintetiza el estradiol en las células de la granulosa por los folículos reclutados mediante la enzima AROM450 (Plant 2015). Si algo similar estuviera pasando en estos animales (aumento en la sensibilidad a FSH), se estaría induciendo a que las células del folículo expresen receptores para LH en menos tiempo, lo cual pudo haber permitido que el folículo adquiriera dominancia y crezca más rápido, sintetizando en consecuencia más estradiol para finalmente provocar que estos animales presenten estro antes.

En cuanto a la detección de estros, no se encontró diferencia entre grupos respecto a la presencia de estro franco, dando un resultado que se encuentra dentro de un rango normal, entre un 50 y 70% de detección con un protocolo convencional de doble aplicación de prostaglandinas (González *et al.*, 2001). Aunque este valor es relativo, ya que en el establo donde se realizó el experimento no cuenta con datos previos para este parámetro (Rorie *et al.*, 2002). Al no existir diferencias en cuanto a la detección de estros entre grupos, nos permite hacer una comparación con un número similar de animales para la tasa de concepción. De la misma manera, no encontramos diferencias en cuanto a los animales que quedaron gestantes por efecto de tratamiento. Esto pudiera deberse a que estos folículos siguen madurando de manera normal al expresar sus receptores para LH, alcanzando un tamaño suficiente para sintetizar el estradiol necesario para la expresión de estro franco, lo que posteriormente desencadenaría el pico preovulatorio de LH, en el momento óptimo para este folículo. Comparando estos resultados con protocolos como el Ovsynch, donde el tamaño del folículo está directamente relacionado con la fertilidad, es que en estos protocolos se fuerza la ovulación con la administración de GnRH exógena, resultando en un tipo de protocolos con mayor precisión para hacer IA a tiempo fijo (Bello *et al.*, 2006). Por otra parte, en el protocolo utilizado, el mismo folículo preovulatorio es quien desencadena el pico preovulatorio de GnRH/LH. Otra posible explicación es que el número de animales para este experimento se calculó con la finalidad evaluar principalmente la dispersión de estros y es posible una falta de sensibilidad en el análisis estadístico para esta variable. El principal problema del protocolo utilizado es que sigue siendo dependiente de la respuesta a la prostaglandina, teniendo las mismas desventajas que los protocolos convencionales con base de prostaglandinas. De la misma manera, dependemos de una detección de celos eficiente, lo que representa una carga de trabajo considerable. Finalmente, el pico preovulatorio endógeno de GnRH/LH sigue siendo un factor determinante para la sincronización de la ovulación. A pesar de esto, el protocolo aquí estudiado, tiene una ventaja importante sobre un protocolo a base de prostaglandinas convencional; la expresión de celo franco ocurre en menor

tiempo. Esto pudiera implicar realizar la detección de estros por menos días, lo que consecuentemente disminuye la carga de trabajo. Además, el costo de la dosis de benzoato de estradiol es mucho más económica que el costo de una GnRH. Considerando que los sistemas familiares cuentan con menos de 100 animales, se estarían aplicando protocolos a pocos animales en condiciones normales comparado con un hato intensivo con mayor cantidad de animales. Por lo tanto, pudiera representar un gasto menor al de pagar a un empleado para que detecte los estros, todo esto dependiendo de las condiciones en las que se encuentre el establo. Este protocolo tiene aún mucho margen de mejora, ya que no hay estudios previos en el sistema de producción familiar y, como se realizó en el caso del protocolo Ovsynch, experimentar con el momento de la aplicación de las hormonas puede mejorar el protocolo. En este caso, aplicar el estradiol días antes pudiera ocasionar cambios positivos en cuanto a la disminución del grado de dispersión, ya que, al momento de aplicar la segunda prostaglandina, más vacas presentarían un folículo potencialmente ovulatorio. Por lo tanto, quedaría aún pendiente determinar el momento más adecuado para aplicar el benzoato de estradiol. El momento ideal debería encontrar la mejor coincidencia entre la disminución de la progesterona (posterior a PG2) y la tasa de crecimiento del folículo preovulatorio para maximizar la tasa de concepción.

El promedio de días abiertos en el establo donde se llevó a cabo el trabajo experimental fue de 170 días. Inchaisri et al. (2010), llevaron a cabo un estudio económico para calcular el costo de un día abierto en sistemas intensivos de producción de leche. De acuerdo con su clasificación, el establo estaría en la categoría de promedio o pobre en cuanto a desempeño reproductivo; los animales van más allá de 130 días abiertos. De acuerdo con sus cálculos, el costo de un día abierto pudiera rondar entre 1 y 2.5 euros por día, lo que representa un área de oportunidad en este parámetro. Respecto al impacto financiero, en el sistema familiar, los costos por alimentación varían dependiendo de la temporada, pero generalmente se encuentran por arriba de un 70% (Shimada 2003), lo que

representa un costo de mantenimiento por animal en producción de 90 pesos diarios. Además, la mano de obra representa un costo aproximado de 20%, mientras que el 10% restante recaería en otras necesidades del hato. De acuerdo con De Vries *et al.* (2005), en Estados Unidos (bajo un sistema tecnificado), los costos por día abierto son muy variados, desde menos de un dólar en establos con menos de 100 días abiertos, a otros extremos donde el costo se incrementa y puede llegar a ser de más de 13 dólares por día. Si los días abiertos se encuentran en promedio en 170 (como es el caso), y para fines demostrativos establecemos en promedio un costo de 5 dólares por día en este sistema. En el caso de que este protocolo se implemente de manera eficiente, al reducir prácticamente un día de detección de estros, el productor se ahorraría alrededor de 500 dólares al año. Este ahorro directamente por efecto del tratamiento, además, al implementar este protocolo, el costo por alimentar a los animales se reduciría y la carga de trabajo pudiera disminuirse, permitiendo a él o los encargados de la unidad de producción dedicar más tiempo a otras labores, eficientizando así el manejo en el establo.

## **VIII. Conclusiones e implicaciones**

En conclusión, el BE con la dosis utilizada sincroniza una oleada de desarrollo folicular observable al día +4 posterior a su aplicación, no modifica la tasa de concepción, la dispersión de estros no se ve reducida y el estro franco se presenta 16 horas antes. El éxito de este protocolo es dependiente de la respuesta a la segunda aplicación de prostaglandina (respuesta dependiente del estatus cíclico del animal y la etapa del ciclo estral). Por otra parte, este protocolo no impacta a la tasa de concepción. Sin embargo, el protocolo proporciona una ventaja importante sobre un protocolo basado únicamente en prostaglandinas, disminución en cuanto al tiempo de detección de estros; lo que implica un menor gasto en tiempo, el cual se puede emplear en otras actividades. Al ser un protocolo relativamente sencillo que se aplica el mismo día de la semana, puede tener una buena aceptación en este

sistema ya que la logística para implementarlo es mínima y el beneficio radica en mejorar un indicador clave que son los días abiertos. Finalmente, este protocolo tiene margen de mejora, quedaría pendiente por determinar el día más efectivo para aplicar el BE con la finalidad de que más folículos sean potencialmente ovulatorios al momento de PG2. Sin embargo, al cambiar los días de administración del BE la complejidad del protocolo se incrementaría.

Dirección General de Bibliotecas UAG

## IX. Referencias

- Adams , G., Jaiswal, R., Singh, J., & Malhi, P. (2008). Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*. 69, 72-80
- Aerts, J., Bols, P. (2010). Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. *Reprod. Dom. Anim.* 45, 180-187.
- Bartolomé, A. (2009). Endocrinología y fisiología de la gestación y el parto en el bovino. *Curso de Postgrado de Manejo Reproductivo en Bovinos Lecheros*, (pp. 3-4). Buenos Aires, Argentina.
- Bello, N. M., Steibel, J. P., & Pursley, J. R. (2006). Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of ovsynch in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 3413- 3424.
- Bo, G., Adams, G., Pierson , R., Tribulo , H., Caccia , M., & Mapletoft, R. (1994). Follicular wave dynamics after estradiol 17-B treatment of heifers with or without a progestogen implant. *Theriogenology*, 41, 1555-1569.
- Bo, G., Adams, G., Pierson, R., & Mapletoft, R. (1995). Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology*, 43, 31-40.
- Boni, R., Roelofsen, M., Pieterse, M., Kogut, J., & Kruij, T. (1997). Follicular dynamics, repeatability and predictability of follicular recruitment in cows undergoig repeated follicular puncture. *Theriogenology*, 48, 277-289.
- Britt, J. (1974). Early postpartum breeding in dairy Cows. A review. *J. Dairy Sci.*, 58, 266-271.
- Cavestany, D. (2000). Manejo reproductivo en vacas lecheras. Montevideo Uruguay: INIA.

- Chenault, J., Thatcher, W., Kalra, P., Abrams, R., & Wilcox, C. (1974). Transitory changes in plasma progesterone, estradiol, and luteinizing hormone approaching ovulation in the bovine. *Dairy Sci*, 58(5), 709-717.
- Davis, J.S., & Rueda, B.R. (2002). The corpus luteum: an ovarian structure with maternal instincts and suicidal tendencies. *Front. Bio. Sci.*, 7, 1949-1978.
- De Vries, A., Van Leeuwen., & Thatcher, W. (2005). Economics of improved reproductive performance in dairy cattle. *University of Florida*. 156, 1-7.
- Dierschke, D., Chaffin, C., & Hutz, R. (1994). Role and site of estrogen action in follicular atresia. *Trends Endocrinol. Metab.*, 5(1), 215-219.
- Domínguez, R., Jordán, C., Castañeda, F. (2014). Contribution of family labour to the profitability and competitiveness of small-scale dairy production systems in central Mexico. *Trop. Anim. Health Prod.*, 46, 235-240.
- Driantcourt, M. (1991). Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology*, 35(1), 55-79.
- Economía, S. d. (2012). Análisis del sector lácteo en México. Retrieved 10 5, 2018, from Secretaría de Economía: [http://www.economia.gob.mx/files/comunidad\\_negocios/industria\\_comercio/informacionSectorial/analisis\\_sector\\_lacteo.pdf](http://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSectorial/analisis_sector_lacteo.pdf)
- Estrada, E., Espinosa, M., de la Torre, J., Villaseñor, F., Vera, H., & Villagomez, E. (2012). Factores que influyen en la detección del primer estro post-parto en vacas del sistema familiar en Jalisco. *Vamos al campo 2012, Memoria técnica*. Tepatitlán, Jalisco, México.
- Fábregues, F., Peñarrubia J., & Creus M. (2009). Transdermal testosterone may improve ovarian response to gonadotropins in low-responder IVF patients: a randomized, clinical trial. *Hum. Reprod.*, 24, 349–59.

- Faust, M., McDaniel, B., Robison, O., & Britt, J. (1998). Environmental and yield effects on reproduction in primiparous Holsteins. *J. Dairy Sci.*, 71, 3092-3099.
- Ferguson, J., & Galligan, D. (1993). Prostaglandin synchronization programs in dairy herds. *Food Animal*, 1127-1130.
- Forde, N., Beltman, M., Lonergan, P., Diskin, M., Roche, J., & Crowe, M. (2011). Oestrus cycles in Bos Taurus cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 3-4, 163-169.
- Fortune, J. (2002). Ativation of primordial follicles . In *The future of the oocyte* (1ra ed., pp. 11-22). Berlin : Springer.
- Fortune, J., Rivera, G., Evans, A., & Turzillo, A. (2001). Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biol. of Reprod.*, 65, 648-654.
- Lima F.S., De Vries A., Risco C.A., Santos J.E., & Thatcher W.W. (2010). Economic comparison of natural service and timed artificial insemination breeding programs in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 93, 4404-4413
- García, L., Bottego, E., & Quintanal, E. (1998). La globalización de la industria lechera y las empresas agroalimentarias trasnacionales. *Agroalimentaria*, 4(7), 31-44.
- García, J., Mariscal, D., Caldera, N., Ramírez, R., Estrella, H., & Núñez, R. (2007). Variables relacionadas con la producción de leche de ganado Holstein en agroempresas familiares con diferente nivel tecnológico. *Interciencia*, 32(12), 841-856.
- García, W. (2011). LA GANADERÍA EN MEXICO: SU CONTRIBUCIÓN A LA SEGURIDAD ALIMENTARIA. *Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura*.
- García-Muñiz, J.G., M. A. (2017). Variables relacionadas con la producción de leche en ganado Holstein en agroempresas familiares en diferente nivel tecnológico. *Interciencia*, 32, 841-846.



- Ginther, O., Wiltbank, M., Fricke, P., Gibbons, J., & Kot, K., (1996). Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.* 55, 1187-1194.
- Goodman, R.L., Gibson M., Skinner, D.C., & Lehman, M.N. (2002). Neuroendocrine control of pulsatile GnRH secretion during the ovarian cycle: evidence from the ewe. *Reprod. Suppl.*, 59, 41–56.
- Goodman, R.L., & Inskeep, E.K.(2006). Control of the ovarian cycle of the sheep. In: *Neill J.D., editor. Knobil and Neill's physiology of reproduction. 3rd. ed. Amsterdam: Elsevier.. 2389-447*
- González, F., Bas, F., Caceres, N., & Rahaussen , E. (2001). Efecto de la sincronización con prostaglandina, en el postparto temprano, sobre el comportamiento reproductivo en vacas lecheras de alta producción. *Cien. Inv. Agr.*, 22(1), 15-22.
- Handa, R.J., & Weiser, M.J. (2013). Gonadal steroid hormones and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Front. Neuroendocrinol.*, 1-24
- Hansel, W., & Convey, E. (1983). Physiology of the Estrous Cycle. *J. Dairy Sci.*, 57, 404-424.
- Hernández, J., Cerón , L., & Zarco, A. (1998). Función del cuerpo lúteo y muerte embrionaria en rumiantes. In J. Hernández, L. Cerón, & A. Zarco. México D.F.: Departamento de Reproducción Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México Ciudad Universitaria.
- Holman, A., Thompson J., Routly, J., Cameron, J., Jones, D., Grove, D., Smith, R., & Dobson, H. (2014). Comparison of oestrus detection methods in dairy cattle. *Veterinary Record.*, 169, 47-52
- INEGI. (1991). *INEGI*. Retrieved 10 5, 2018, from INEGI: [http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod\\_serv/cont](http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/cont)

enidos/espanol/bvinegi/productos/historicos/380/702825118525/702825118525\_1.pdf

- Lamb, G., Smith, M. F., Perry, G. A., Atkins, J. A. , Risley, M. E. , Busch, D. C., & Patterson, D. J. (2010). Reproductive endocrinology and hormonal control of the estrus cycle. *43rd Annual Conference of the American Association of Bovine Practitioners.*, (págs. 18-26). Albuquerque, New Mexico, USA, 19-21 August 2010.
- Larson, L., & Ball, P. (1992). Regulation of estrous cycles in dairy cattle: a review. *Theriogenology.*, 38, 255-267.
- Lucy, M., Savio, J., Badinga , L., De La Sota, R., & Thatcher, W. (1992). Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.*, 70, 3615-3626.
- Marini, P., Galassi, & Di Masso, R. (2010). Relación entre el lapso detección del celo-inseminación y el porcentaje de preñez en vacas lecheras celo-inseminación y porcentaje de preñez. *InVet.*, 12(1).
- Miller, R., Norman, H., Kuhn, M., Clay , J., & Hutchison, J. (2007). Voluntary waiting period and adoption of synchronized breeding in dairy herd improvement herds. *J. Dairy Sci.*, 90, 1594-1606.
- Montiel-Olguín, L.J., Estrada-Cortés, E., Espinosa-Martínez, M.A., Mellado, M., Hernández-Vélez, J.O., Martínez-Trejo, G., Ruiz-López, F.J., & Vera-Avila H.R. (2019). Risk factors associated with reproductive performance in small-scale dairy farms in México. *Trop. Anim. Health Prod.*, 1, 229-236.
- Motta, P., Ramos , N., González , C., & Castro , E. (2011). Dinámica folicular en la vida reproductiva de la hembra bovina. *Vet.Zootec.*, 5(2), 88-99.
- Odde, K. (1990). A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J. Anim. Sci.*, 68, 817-830.
- Plant, T. (2015). The hypothalamo-pituitary-gonadal axis. *J. Endocrinol.*, 226, 41-54.

- Pursley, J. R., Mee, M. O., & Wiltbank, M. C. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and GnRH. *Theriogenology.*, 44, 915-923.
- Richards, J.S (2007). Genetics of ovulation. *Semin. Reprod. Med.*, 25, 235-241.
- Ricci, A., Li, M., Fricke, P. M., & Cabrera, V. E. (2020). Economic impact among 7 reproductive programs for lactating dairy cows, including a sensitivity analysis of the cost of hormonal treatments. *J. of Dairy Sci.* 103, 5654- 5661.
- Rippe, C. (2009). EL CICLO ESTRAL. DCRC, 111-116.
- Roelofs, J., López-Gatius F., Hunter R.H.F., Eerdenburg F.J.C.M., & Hanzen Ch. (2010). When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology.*, 74, 327-344.
- Roelofs, J., & Kooij E. (2015). Estrus detection tools and their applicability in cattle: recent and perspectival situation. *Anim. Reprod.*, 12, 498-504,
- Rorie, R. W., Bilby, T.R., & Lester, T.D. (2002). Application of electronic estrus detection technologies to reproductive management of cattle. *Theriogenology.*, 57, 137-148.
- SAGARPA. (2017). *Panorama de la leche en México*. Retrieved 10 5, 2018, from SAGARPA:  
[http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche\\_Diciembre2017.pdf](http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche_Diciembre2017.pdf)
- Schams, D., Schallenberger, E., & Hoffman, B. (1977). The oestrous cycle of the cow: hormonal parameters and time relationships concerning oestrus, ovulation, and electrical resistance of the vaginal mucus. *Acta Endocrinologica.*, 86, 180-192.
- Shimada, M. (2003) *Nutrición animal* (Primera ed.). México DF Trillas

- Silvia, w., Lewis, G., McKracken, J., Thatcher, W., & Wilson, L. (1991). Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F2a during luteolysis in ruminants. *Biol. of Reprod.*, 45, 655-663.
- Sirois, J., & Fortune, J. (1988). Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.*, 39, 308-317.
- Trimberger GW. 1948. Breeding efficiency in dairy cattle from artificial insemination at various intervals before and after ovulation. *Nebr. Agric. Exp. Sta. Res. Bull.*, 153,3-25.
- Vera-Avila, H.R., Hernández-Andrade, L., Espinosa-García, J.A., Ortega-Reyes, L., Díaz-Aparicio, E., Román-Ponce, H., Núñez-Hernández, G., Medina-Cruz, M. & Ruiz-López F.J. (2009). *Producción de leche de bovino en el sistema familiar*. Libro Técnico. Veracruz, México. INIFAP.
- Villareal, G., Aguilar, V., & Luévano, G. (1998). *El Impacto Socioeconómico de la*. Retrieved 10 5, 2018, from Revista Mexicana de Agronegocios: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14100306>> ISSN 1405-9282
- Walter, D., Schams, D., & Schallenberger, E. (1984). Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during the luteal phase of the oestrous cycle in the cow. *Reprod. & Fert.*, 71, 479-491.
- Wiltbank, M.C., Sartori, R., Herlihy, M.M., Vasconcelos, J.L.M., Nascimento, A.B., Souza, A.H., Ayres, H., Cunha, A.P., Keskin, A., Guenther, J.N., & Gumen, A., (2011) Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. *Theriogenology.*, 76, 1568-1582.
- Wiltbank, M., & Pursley, J. (2014). The cow as induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology.*, 81(1), 170-185.

Yen, S., & Tsai, C. (1971, Junio 2). The biphasic pattern in the feedback action of ethinyl estradiol on the release of pituitary FSH and LH. University of California, La jolla, Estados Unidos .

Yoshioka, H., Ito, M., & Tanimoto, Y. (2010). Effectiveness of real-time radiotelemetric pedometer for estrus detection and insemination in Japanese Black cows. *J Reprod. Dev.*, 56, 351-355.

Dirección General de Bibliotecas UNAO