

COMPARACIÓN DEL CIPIONATO DE ESTRADIOL VS BENZOATO DE ESTRADIOL SOBRE LA RESPUESTA A ESTRO Y TASA DE GESTACIÓN EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN CON CIDR EN NOVILLAS Y VACAS *Bos indicus*

Comparison of estradiol cypionate vs estradiol benzoate on estrus response and pregnancy rate in synchronisation protocols with CIDR in *Bos indicus* heifers and cows

JA Peralta-Torres, JR Aké-López , FG Centurión-Castro, JG Magaña-Monforte

(JAPT)(JRAL)(FGCC)(JGMM) Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. CCBA-UADY. Km. 15.5 Carretera Mérida-X'Matkuil, Mérida, Yucatán. Tel. (999) 9423213, Fax (999) 9423205. alopez@uady.mx

Artículo recibido: 3 de junio de 2009, aceptado: 12 de mayo de 2010

RESUMEN. El objetivo del estudio fue comparar el efecto del cipionato de estradiol (CE) vs benzoato de estradiol (BE) sobre la tasa de presentación de estro, el intervalo retiro del CIDR al estro (IRC-E) y la tasa de gestación, y evaluar el cambio de condición corporal (CC) sobre la tasa de gestación en 227 hembras Cebú (vacas y novillas). Cada hembra recibió un CIDR y 1 mg de BE; al retiro del CIDR se formaron tres grupos: I) CE, que recibió 0.5 mg de CE; II) BE, que recibió 0.5 mg de BE 24 h después del retiro del CIDR; y III) control, que recibió 1 ml de solución salina. Se encontró mayor porcentaje de hembras en estro en CE (72%) y BE (79%) que en control (35%; $p < 0.05$), no se encontró diferencia significativa entre vacas y novillas dentro de cada grupo. Tampoco en el IRC-E y en la tasa de gestación entre los diferentes grupos, ni entre vacas y novillas dentro de grupo ($p > 0.05$). Las hembras que ganaron CC presentaron mayor porcentaje de gestación (52%; $p < 0.05$) que las hembras que mantuvieron (35%) o que perdieron CC (34%). En conclusión, el uso del CE y BE en vacas y novillas tienen un efecto similar favorable sobre las tasas de presentación de estro, pero no sobre las tasas de gestación. El aumento de la CC en las hembras sincronizadas es un factor significativo que favorece la tasa de gestación.

Palabras clave: Benzoato de estradiol, cipionato de estradiol, sincronización, tasa de gestación, condición corporal.

ABSTRACT. The objectives of the study were to compare the effect of estradiol cypionate (CE) vs estradiol benzoate (BE) on the estrus rate, the interval of CIDR removal to estrus (IRC-E) and the pregnancy rate, and to evaluate the change in body condition (CC) on the pregnancy rate in 227 Zebu females (cows and heifers). Each female received one CIDR plus 1 mg BE; three groups were formed after CIDR removal: I) CE, that received 0.5 mg of CE; II) BE, that received 0.5 mg of BE 24 h after CIDR removal; and III) control, that received 1 ml of saline solution. A higher estrus rate was observed in females in CE (72%) and BE (79%) than in the control group (35%; $p < 0.05$). No significant difference was found among the cows and heifers within each group ($p > 0.05$). No effects were recorded for the IRC-E or the pregnancy rate among the different groups, nor among the cows and heifers within a group ($p > 0.05$). The females that gained BC presented a higher pregnancy rate (52%; $P < 0.05$) than those that maintained (35%) or lost BC (34%). In conclusion, the use of CE and BE in cows and heifers has a similar positive effect on the estrus rate, but not on the pregnancy rate. The increase in body condition in the synchronised females is a significant factor that favours the pregnancy rate.

Key words: Estradiol benzoate, estradiol cypionate, synchronisation, pregnancy rate, body condition.

INTRODUCCIÓN

Actualmente los protocolos para sincronizar el

estro se basan principalmente en el uso de progestágenos, siendo el dispositivo intravaginal liberador de progesterona (CIDR) uno de los más utilizados

(Carvalho *et al.* 2008). A pesar de que con el uso de estos agentes sincronizadores se pueden agrupar estratégicamente los estros, los resultados obtenidos al implementar programas de inseminación artificial (IA), en términos de fertilidad después de la sincronización del estro, han sido bajos (Díaz *et al.* 2002; Ross *et al.* 2004).

Con la finalidad de mejorar la respuesta cuando se sincroniza el estro con el CIDR, se ha implementado la aplicación de otras hormonas como la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la gonadotropina coriónica equina (eCG) y el estradiol, en sus diferentes presentaciones (benzoato de estradiol, cipionato de estradiol, valerato de estradiol). El estradiol tiene dos funciones principales. Cuando se aplica al inicio del tratamiento con progestágenos, tiene la finalidad de provocar la atresia de los folículos existentes, para así inducir el surgimiento de una nueva oleada folicular entre tres y cinco días después de su aplicación (Bó *et al.* 1994), lo que asegura la presencia de un folículo nuevo y un oocito viable al finalizar el tratamiento. Cuando el estradiol se aplica al retiro del progestágeno, induce una retroalimentación positiva sobre el hipotálamo produciendo a su vez la liberación de GnRH, la cual es capaz de aumentar los pulsos y la frecuencia de la hormona Luteinizante (LH), logrando con ello que se unifique y se reduzca el tiempo en que se presenta la ovulación (Lefebvre *et al.* 1992; Lucy *et al.* 2004), lo que puede utilizarse para realizar la IA a un tiempo fijo (IATF) (Diskin *et al.* 2002). Los resultados en la tasa de gestación con el uso del benzoato de estradiol han sido variables y oscilan entre el 45 y 47.5 % (Ross *et al.* 2004), mientras que con el uso del cipionato de estradiol la tasa de gestación reportada es alrededor del 56 % (Colazo *et al.* 2004). Sin embargo, los trabajos realizados son escasos y todavía se requiere más información al respecto y particularmente en ganado *Bos indicus* bajo condiciones de trópico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio

El experimento se llevó a cabo de abril a mayo de 2008, en la región centro del municipio de Vi-

llahermosa, Tabasco, situado entre los paralelos 18° 20' de latitud Norte y 93° 15' de longitud Oeste. El clima es cálido-húmedo con abundantes lluvias en verano (AW1), presenta temperatura media anual de 33.6 °C y precipitación pluvial anual de 2,237 mm (Anónimo 2005).

Animales

Se utilizaron 227 hembras *Bos indicus* (Brahman comercial), de las cuales fueron 159 vacas multíparas (4-5 partos) con 180 y 240 días posparto, ya destetadas, y 68 novillas entre 24 y 30 meses de edad. Las hembras tuvieron condición corporal (CC) promedio de 4.73 + 1.02, en escala de 1 a 9 (1 = emaciada y 9 = obesa; Ayala *et al.* 1995), se mantuvieron en condiciones de pastoreo las 24 h del día en zacate Estrella de África (*Cynodon nemfuensis*) grama amarga (*Paspalum virgatum*) y Camalote (*Panicum leucophaeum*), y recibieron como suplemento alimenticio 1 kg de alimento comercial con 14 % de proteína.

Tratamientos

El día de inicio del estudio (día 0), a todas las hembras se les colocó un dispositivo intravaginal CIDR® (Lab. Pfizer, México), que contiene 1.9 g de progesterona natural, y se les aplicó por vía intramuscular 1 mg de benzoato de estradiol (Lab. Syntex, México). El CIDR permaneció *in situ* 9 d. El día del retiro del CIDR (día 9) se formaron los siguientes grupos:

I) Grupo cipionato de estradiol: (CE; 22 novillas y 56 vacas): se les aplicó 25 mg de prostaglandina F2 alfa (PGF2 α ; Lutalyse®, Lab. Pharmacia & Upjohn, México) y 0.5 mg de CE (ECP®, Lab. Pharmacia & Upjohn, México), ambos por vía intramuscular.

II) Grupo benzoato de estradiol: (BE; 23 novillas y 53 vacas), se les aplicó 25 mg de PGF2 α y 24 h después (día 10) 0.5 mg de BE, ambos por vía intramuscular.

III) Grupo control: (C; 23 novillas y 50 vacas), recibieron 25 mg de PGF2 α y 1 ml de solución salina, ambos por vía intramuscular.

Detección de estros, IA y diagnóstico de ges-

Tabla 1. Proporción de hembras *Bos indicus* en estro e intervalo retiro del CIDR al estro, observados en los diferentes grupos (CE, BE, Control).

Table 1. Proportion of *Bos indicus* females in estrus and interval of CIDR removal to estrus, observed in the different treatments (CE, BE, Control).

	CE	BE	Control
n	78	76	73
Hembras que mostraron Estro (%)	72 a	78 a	36 b
Intervalo retiro del CIDR/Estro (h)	42 ± 6.96 a	45.56 ± 6.21 a	43.85 ± 6.52 a

^{ab} Diferente literal entre líneas indica diferencia estadística ($p < 0.05$).

tación

El estro se detectó por observación visual, tres veces al día (06:00, 12:00 y 18:00 h), por lapsos de observación de una hora; inició 24 h después del retiro del CIDR y finalizó hasta el momento en que se realizó la IA. Todas las hembras del estudio fueron inseminadas por un mismo técnico entre las 55 a 60 h después del retiro del CIDR; para la inseminación se utilizó una dosis de semen congelado-descongelado. El diagnóstico de gestación se realizó por medio de palpación transrectal 60 d después de la IA.

Evaluación de la condición corporal

Se registró la condición corporal (CC) de cada hembra el día de la inserción del CIDR (día 0) y al realizar el diagnóstico de gestación. Por diferencia en el puntaje de la CC entre las dos evaluaciones realizadas, las hembras se agruparon en los siguientes grupos: perdieron, mantuvieron o ganaron CC.

Análisis estadístico

Los efectos del tratamiento, tipo de hembra (vaca o novilla) y las interacciones de primer orden, sobre el intervalo entre el retiro del CIDR y la presentación del estro y el porcentaje de vacas en estro fueron analizados mediante un modelo de efectos fijos (SAS 2002). Debido a que las interacciones de primer orden no resultaron significativas ($p > 0.10$). El modelo final utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + ER_j + E_{ijk} \quad (1)$$

Donde;

Y_{ijk} = es la ijk -ésima observación de la variable correspondiente

μ = efecto de la media

T_i = efecto del i -ésimo tratamiento

ER_j = efecto del j -ésimo tipo de hembra

E_{ijk} = es el efecto del error aleatorio

Para la variable tasa de gestación se utilizó un modelo fijo que incluyó los efectos de los tratamientos (CE, BE y C), tipo de hembra (vaca o novilla), la interacción entre el tratamiento y tipo de hembra y los cambios de la CC (perdieron, mantuvieron o ganaron) después de la aplicación de los tratamientos hasta el diagnóstico de gestación. Debido a la que la desviación estándar fue mayor que la media se reanalizaron los datos después de corregirlos por la raíz cuadrada más 0.5 (Little & Hills 1983) y los efectos de los tratamientos y sus interacciones no cambiaron, por lo que se presentan las medias de mínimos cuadrados de los datos sin corregir y la comparación de medias se realizó a través de los procedimientos de PDIFF del (SAS 2002).

RESULTADOS

Del total de las hembras del estudio 62 % presentaron estro, de ese porcentaje de hembras en estro, la mayor proporción (78 %) inició su comportamiento estral durante la tarde-noche y la mañana.

En la Tabla 1 se presenta el porcentaje de hembras que mostraron estro, así como el intervalo de tiempo retiro del CIDR-estro, en los diferentes grupos (CE, BE y C). No se encontró efecto del tipo de hembra (novillas = 61 %; vacas = 67 %; $p > 0.05$), sobre la aparición del estro (ni interacción con los tratamientos). El grupo control presentó 42 % menos de vacas en estro en comparación con el grupo BE ($p < 0.05$), y 36 % menos que el grupo CE ($p < 0.05$). El tiempo transcurrido después del retiro

del CIDR a la observación del estro fue similar para los tres tratamientos ($p > 0.05$), encontrándose entre 42 y 45 h. En esta variable tampoco se encontró efecto significativo del tipo de hembra (novillas = 43 ± 1.17 , vacas 45 ± 0.78 h; $p > 0.05$) sobre el tiempo transcurrido entre el retiro del CIDR al estro, ni de su interacción con los tratamientos.

El porcentaje general de animales gestantes fue 40% (91/227), el cual es relativamente bajo. No se encontró efecto del tratamiento ($p > 0.05$), ni del tipo de hembra (vaca o novilla) ($p > 0.05$) sobre la tasa de gestación (Tabla 2). Sin embargo, el cambio de CC después de la inseminación presentó efecto sobre la tasa de gestación, ya que fue mayor en las vacas que ganaron CC ($p < 0.05$), en comparación con las vacas que mantuvieron o que perdieron CC (Tabla 2). No se encontró interacción entre el tratamiento y el tipo de hembra, y tampoco entre los tratamientos y los cambios de CC.

Tabla 2. Porcentaje de gestación debido al efecto del tratamiento, del tipo de hembra y del cambio de la condición corporal en ganado *Bos indicus*.

Table 2. Pregnancy rate due to the effect of the treatment, of the type of female, and of the change in body condition in *Bos indicus* cattle.

Factor	n	Gestación (%)
Tratamiento		
CE	78	51 a
BE	76	30 a
Control	73	38 a
Tipo de hembra		
Novilla	68	36a
Vaca	159	45a
Cambios de CC		
Perdieron	61	34a
Mantuvieron	101	35a
Ganaron	65	52b

^{ab} Diferente literal entre líneas indica diferencia estadística ($p < 0.05$).

DISCUSIÓN

El porcentaje general de hembras en estro observado en este estudio fue bajo comparado con lo reportado por Martínez *et al.* (2000) y García & De Jarnette (2003), quienes en hembras *Bos taurus* observaron entre 87 y 93.3% de vacas en estro;

de igual forma, Lammoglia *et al.* (1998) reportan que el porcentaje de vacas *Bos taurus* en estro con protocolos de sincronización a base de CIDR oscila entre 86 y 100%, porcentajes que son superiores a los encontrados en el presente trabajo. El menor porcentaje de hembras en estro del presente estudio en comparación con los reportados en la literatura pudo haber sido debido por una parte a que los animales del presente estudio son *Bos indicus* y los de los diferentes autores son *Bos taurus*, por otra parte a la época en la que se realizó el estudio, que corresponde a los meses más calurosos del año, lo que pudo dar como consecuencia una pobre respuesta de los animales. Diversos reportes indican que las altas temperaturas y la CC pueden afectar la función folicular y por lo tanto afectar la respuesta a la sincronización (Viscarra *et al.* 1998; Roth *et al.* 2000; Diskin *et al.* 2002). Por otra parte, el menor promedio encontrado en este estudio se vio influenciado más aún por la pobre respuesta del grupo control (36%), grupo que no recibió ninguna fuente de estrógenos, lo que posiblemente influyó para que las vacas no presentaran estro.

En cuanto a la proporción de hembras que presentaron estro, en el presente estudio no se encontró diferencia significativa entre vacas y novillas dentro de cada grupo (CE, BE y control) sin embargo si se encontró diferencia significativa entre el grupo control y los grupos CE y BE. García & De Jarnette (2003) trabajaron con novillas Angus y F1, en las cuales registraron que la proporción de hembras en estro en el grupo CE fue similar al control (93.3 vs 95.6%), lo cual difiere con el presente estudio. Por otra parte, Martínez *et al.* (2000) utilizaron novillas F1 y encontraron diferencias significativas entre el grupo tratado con BE y el control (100 vs 83%), similar a lo encontrado en este estudio. El mayor porcentaje de vacas en estro en los grupos CE y BE en comparación con el control, podría explicarse en parte por la administración de estradiol el día del retiro del CIDR (CE) y 24 h después (BE), ya que puede ejercer una acción directa sobre la conducta sexual, y sobre las manifestaciones de estro. Sumano & Ocampo (1997) mencionan que la aplicación del estradiol tiene el efecto farmacológico de inducir las manifestaciones de estro, siendo posible-

mente esta la razón por la cual el menor porcentaje de vacas en estro se encontró en el grupo control.

El intervalo de tiempo en que se presentó el estro después de retirado el CIDR fue 42 a 45 h, sin diferencia entre grupos (CE, BE y control). García & De Jarnette (2003) observaron que el intervalo a la presentación del estro en novillas tratadas con CE en comparación con el grupo control fue 51.4 vs 48.8 h. Estos resultados evidencian que el tiempo transcurrido después del retiro del CIDR a la presentación del estro no difiere mucho entre tratamientos, y sugieren que el tratamiento empleado afecta la proporción de hembras en estro, pero no el tiempo en que aparecen los signos del estro.

En el presente estudio, la ausencia de diferencia en los porcentajes de gestación de vacas y novillas en cada grupo, y en general entre grupos, es similar al reporte de Colazo *et al.* (2003), quienes no observaron diferencias en la tasa de gestación con novillas Angus y F1 tratadas con CE y BE (63.3 vs 63.1 %). De igual forma, García & De Jarnette (2003) no observaron diferencias en la tasa de gestación con el uso del CE en comparación con el grupo control (43.2 vs 37.5 %). Otros estudios tampoco encontraron diferencias entre sus animales tratados con BE y el grupo control (Kim *et al.* 2005; Abad-Zavaleta *et al.* 2006; Alnimer & Hussein 2007), reportando tasas de gestación entre 28 y 50 %. Contrario a los resultados del presente estudio, Fernández-Abella & Villegas (2002) al utilizar BE reportaron mayor tasa de gestación (42 %) que en el grupo control (24.7 %) ($p < 0.05$). Estos resultados son diferentes a los obtenidos en este estudio, ya que los porcentajes de gestación fueron similares entre el grupo BE y el control.

Los porcentajes de gestación obtenidos en el presente estudio, aunque se encuentran dentro de los reportados en la literatura, son relativamente bajos. Sin embargo, se ha reportado que la sincronización del estro con la utilización del CIDR resulta en una baja fertilidad al primer servicio (Chenault *et al.* 2003). Por otra parte, no hay que descartar

el efecto de la época del año en la que se realizó el experimento, la cual corresponde a los meses más calurosos de la región. Al respecto, se ha demostrado que el estrés térmico deprime el desarrollo y la función folicular (Roth *et al.* 2000) y puede provocar alteraciones en el desarrollo embrionario temprano (Hansen *et al.* 2001; Lozano *et al.* 2005), lo cual se refleja en bajas tasas de gestación.

El cambio positivo de la CC favoreció la tasa de gestación en las hembras del presente estudio. Estos resultados son de cierta forma similares a lo reportado por Abán *et al.* (2008), quienes observaron que las hembras que ganaron CC a los 120 d posparto y las que mantuvieron su CC, tuvieron mejor tasa de gestación (58 y 60%; $p < 0.05$) en comparación con el grupo que perdió CC (36%). Estos resultados confirman que los cambios en la CC después de la inseminación repercuten directamente en los porcentajes de gestación, en especial si hay pérdida de CC. Por lo general, un descenso en la CC indica que los animales están en balance energético negativo, el cual reduce la frecuencia de LH, las concentraciones circulantes de insulina, glucosa, factor de crecimiento similar a la insulina-1 y la producción de estradiol en el ovario (Leroy *et al.* 2005), lo que de una u otra forma afecta las tasas de gestación.

Bajo las condiciones del presente trabajo, el uso de CE y BE como tratamiento para la sincronización en vacas y novillas tienen un efecto similar favorable sobre las tasas de presentación de estro, pero no sobre las tasas de gestación. El aumento de condición corporal en las vacas sincronizadas es un factor significativo que favorece la tasa de gestación.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT; No. de becario 202354), a la familia Bustamante León por los animales aportados y al equipo de trabajo que formaron parte de este estudio.

LITERATURA CITADA

- Abad-Zavaleta J, Ramírez-Godínez JA, Flores-Mariñelarena A, Grado Ahuir A, García Macías A (2006)

- Benzoato de estradiol en vaquillas sincronizadas con progesterona y prostaglandina-F 2α . Arch. Zootec. 55 (209): 15-20.
- Aban CJA, Delgado R, Magaña JG, Segura JC (2008) Factores que afectan el porcentaje de gestación a 120 días posparto de vacas cebú y cruzas con europeo en el sureste de México. Av. Inv. Agropecuaria. 12: 45-56.
- Alnimer MA, Husein MQ (2007) The effect of progesterone and oestradiol benzoate on fertility of artificially inseminated repeat-breeder dairy cows during summer. Reprod. Dom. Anim. 42: 363-369.
- Anónimo (2005) Enciclopedia de los Municipios de México [En línea] Instituto nacional para el federalismo y desarrollo municipal, gobierno del Estado de Tabasco. http://www.e-local.gob.mx/wb2/ELOCAL/EMM_tabasco (Consultado 11 de Marzo de 2008).
- Ayala A, Delgado R, Honhold N, Magaña J (1995) A visual condition scoring scheme for *Bos indicus* and crossbred cattle. In: Dual Purpose Cattle Production Resarch. Eds. Simon Anderson and Jonathan Wadsworth. International Foundation for Science. FMVZ-UADY. pp 119-128.
- Bó GA, Adams GP, Pierson RA, Tribulo HE, Caccia M, Mapleton RJ (1994) Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. Theriogenology 41: 1555-1569.
- Carvalho JBP, Carvalho NAT, Reis EL, Nichi M, Souza AH, Baruselli PS (2008) Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* X *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. Theriogenology. 69: 167-175.
- Chenault JR, Boucher JF, Dame KJ, Meyer JA, Wood-Follis SL (2003) Intravaginal progesterone insert to synchronize return to estrus of previously inseminated dairy cows. J. Dairy Sci. 86: 2039-2049.
- Colazo MG, Kastelic JP, Mapleton RJ (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 MG, Kastelic JP, Martínez MF, Whittaker PR, Wilde R, Ambrose JD, Corbett R, Mapleton RJ (2004) Fertility following fixed-time AI in CIDR-treated beef heifers given GnRH or estradiol cypionate and fed diets supplemented with flax seed or sunflower seed. Theriogenology. 61: 1115-1124.
- Díaz GS, Galina CS, Basurto CH, Ochoa GP (2002) Efecto de la progesterona natural con o sin la adición de benzoato de estradiol sobre la presentación de celo, ovulación y gestación en animales tipo *Bos indicus* en el trópico mexicano. Arch. Med. Vet. 34: 235-244.
- Diskin MG, Austin EJ, Roche JF (2002) Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. Domest. Anim. Endocrinol. 23: 211-228.
- Fernández-Abella D, Villegas N (2002) Efecto de la administración de eCG o benzoato de estradiol asociado a PGF 2α sobre la fertilidad de vacas Hereford de baja condición corporal destetadas precozmente. Agrociencia. 2: 33-36.
- García A, De Jarnette M (2003) The effects of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) or estradiol cypionate (ECP) treatment at CIDR insertion on reproductive performance of virgin beef heifers. Theriogenology. 59 (1): 219 (abstract).
- Hansen PJ, Drost M, Rivera RM, Paula-Lopes FF, Al-Katanani YM, Krininger III CE, Chase CC Jr. (2001) Adverse impact of the heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. Theriogenology. 55: 91-103.

- Kim UH, Suh GH, Nam HW, Kang HG, Kim IH (2005) Follicular wave emergence, luteal function and synchrony of ovulation following GnRH or estradiol benzoate in CIDR-treated, lactating Holstein cows. *Theriogenology*. 63: 260-268.
- Lammoglia MA, Short RE, Bellows RE, Bellows SE, MacNeill MD, Hafs HD (1998) Induced and synchronized estrus in cattle. Dose titration of estradiol benzoate in prepuberal heifers and post-partum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F_{2α}. *J. Anim. Sci.* 76: 1662-1670.
- Lefebvre DM, Block E. (1992). Effect of recombinant bovine somatotropin on estradiol-induced estrous behavior in ovariectomized heifers. *J. Dairy Sci.* 75: 1461-4.
- Leroy JL, Vanholder T, Mateusen B, Christophe A, Opsomer G, De Kruif A, Genicot G, Van Soom A (2005) Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes in vitro. *Reproduction* 485-495.
- Little TM, Hills FJ (1983) *Métodos estadísticos para la investigación en agricultura*. Editorial Trillas, México, DF. 270 pp.
- Lozano DRR, Vásquez PCG, González PE (2005) Efecto del estrés calórico y su interacción con otras variables de manejo y productivas sobre la tasa de gestación de vacas lecheras en Aguascalientes, México. *Vet. Méx.* 36(3): 245-260.
- Lucy MC, McDougall S, Nation DP (2004) The use of hormonal treatment to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83: 495-512.
- Martínez MF, Kastelic JP, Adams GP, Janzen E, McCartney DH, Mapletoft RJ (2000) Estrus synchronization and pregnancy rates in beef cattle given CIDR-B, prostaglandin and estradiol or GnRH. *Can. Vet. J.* 41: 786-790.
- Ross PJ, Aller JF, Callejas SS, Butler H, Alberio RH (2004) Estradiol benzoate given 0 or 24 h after the end of progestagen treatment in postpartum suckled beef cows. *Theriogenology*. 62: 265-273.
- Roth Z, Meidan R, Braw-Tal R, Wolfenson D (2000) Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *J. Reprod. Fert.* 120: 83-90.
- SAS (2002). *User's Guide. Statistics 8th ed.* Cary (NC): SAS Institute Inc., 2002.
- Sumano LH, Ocampo CL (1997) *Farmacología Veterinaria*. Segunda Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México, D.F. 544 pp.
- Viscarra JA, Wettermann RP, Spitzer JC, Morrison DG (1998) Body condition at parturition and postpartum weight gain influence luteal activity and concentrations of glucose, insulin and non-esterified fatty acids in plasma of primiparous beef cows. *J. Anim. Sci.* 76: 493-500.