

**INFLUENCIA DE LA ÉPOCA DE PARTO, LA CONDICIÓN CORPORAL
Y LA SUPLEMENTACIÓN SOBRE LA ACTIVIDAD OVÁRICA POSTPARTO
DE VACAS MESTIZAS BAJO PASTOREO MIXTO EN EL NORTE
DEL ESTADO GUÁRICO, VENEZUELA**

**Influence of Calving Season, Body Condition and Supplementation
on Postpartum Ovarian Activity of Crossbred Cows under Mixed Pasture Grazing
in Northern Guárico State, Venezuela**

Carlos E. Domínguez^{*1}, Julio Garmendia^{**} y Nelson Martínez^{***}

^{*} IDESSA, Universidad Rómulo Gallegos. ^{**} Facultad de Ciencias Veterinarias-UCV.

^{***} Facultad de Agronomía-IPA- UCV.

Correo-E: cdomig@cantv.net

Recibido: 12/04/07 - Aprobado: 21/09/07

RESUMEN

A objeto de medir la influencia de la época de parto, la condición corporal y la suplementación sobre los cambios en la actividad ovárica antes de los 90 días post-parto, 60 vacas adultas mestizas pastoreando pastos nativos, *Panicum maximun* y *Cynodon sp.*, fueron seleccionadas y distribuidas al azar en dos tratamientos: T1 = pastoreo + suplementación (bloque multinutricional, BM) pre-parto (45 días) y post-parto (90 días); T2 = Pastoreo + suplementación (BM) post-parto (90 días). Se hicieron las siguientes mediciones: altura a la cruz (AC), peso corporal (PC) y condición corporal (CC). Progesterona en leche descremada y la actividad ovárica fueron medidas dos 2 veces/semana. El forraje y el BM fueron analizados por época y el consumo fue registrado semanalmente. Las variables estudiadas fueron: Tratamiento (T1-T2); Época de parto (EP): 1 (abril-mayo), 2 (junio-septiembre) y 3 (octubre-enero); AC; CC: pobre (2), moderada ($\geq 2,5$) y buena (>3), nivel de progesterona (NP) y número de folículos por clase I ($\leq 5\text{mm}$), II (6-9mm) y III ($\geq 10\text{ mm}$). AC fue usada como covariable. Los datos fueron

ABSTRACT

The aim of this estudy was to evaluate the influence of either calving season, body condition score and supplementation on changes of the ovarian activity before 90 days post calving. Sixty crossbred cows were subjected to a completely randomized design, grazing native forages (*Panicum maximun* and *Cynodon sp.*), and assigned to two treatments (T1: grazing + supplementation during 45 days pre calving and 90 days post calving and T2: grazing + supplementation during 90 days post calving). Progesterone levels in skimmed milk and ovarian activity were recorded twice a week. Samples of forage and supplement were analyzed by season. Supplement intake was registered weekly. Variables studied were: Treatment (T1 and T2); Season of Calving (SC): 1 (April-May), 2 (June-September), and 3 (October-January); Girth Height (GH); Body Condition Score (BCS): poor (2), moderate (≥ 2.5) and good (>3) and number of follicles by class: I ($\leq 5\text{mm}$); II (6-9 mm) and III ($\geq 10\text{mm}$). GH was used as covariate. Data were analyzed using an additive linear model by least square methodology (SPSS 7.5). Class III

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

analizados a través del modelo lineal aditivo por el método de mínimos cuadrados del paquete SPSS, 7.5. El número de folículos clase III fue analizado a través del estadístico *Kruskal-Wallis*. La frecuencia de la actividad luteal por tablas de contingencia a través de la prueba de χ^2 . T1 y T2 no influyeron sobre el intervalo parto e inicio de actividad luteal ($p > 0,05$), la frecuencia de actividad luteal, ni sobre el número de folículos clase I y III ($p > 0,10$); pero sí sobre el número de folículos clase II. La época de parto (EP) influyó ($p < 0,001$) sobre el número de folículos clase I y III siendo mayor en vacas paridas en EP3. Las vacas con CC buena tuvieron mayor número de folículos clase I, II y III que las vacas con CC pobre ($p < 0,001$). El número de cuerpos lúteos observado fue afectado por EP ($p < 0,001$). De éstos, el 71,4% fue detectado en vacas que parieron en EP3. Los resultados obtenidos indican la posible existencia de un efecto estacional sobre la población folicular y la presencia de cuerpos lúteos, modulada por la condición corporal de la vaca al parto y en consecuencia, sobre la respuesta reproductiva.

(Palabras clave: Ganado, vaca, razas mixtas, condición corporal, estaciones del año, parto, suplementos, Guárico)

follicles were analyzed using Kruskal-Wallis test. Both, frequency of corpora lutea and luteal activity were analyzed by contingency tables and compared with Chi-square χ^2 . Treatments did not affect either the onset of luteal activity ($p > 0.05$) luteal activity frequency. Class I and III follicles were not affected ($p > 0.1$) by treatment, but class II follicles were. SC significantly affected class I and class III follicles ($p < 0.001$). Cows with BC > 3 showed a higher number of class I, II, III follicles than cows with BC = 2 and this effect was significant ($p < 0.001$). Treatment 1 during both, dry and transitional season, apparently promoted growth of small follicles (≤ 5 mm). Corpora lutea were not affected by treatment but SC affected ($p < 0.01$) corpora lutea number, being 71.4 % of them detected during the transitional season. These results suggest a seasonal effect on follicular population, and corpora lutea influenced by body condition, on reproductive performance.

(Key words: Cows, livestock, multipurpose breeds, body condition, seasons, parturition, supplements, Guárico)

INTRODUCCIÓN

La aplicación de estrategias alimenticias, la reducción de pérdidas de peso post-parto o las ganancias de masa corporal y eventualmente de condición corporal, pueden contribuir en la activación de los mecanismos secretorios hormonales implícitos en la dinámica folicular ovárica, con una consecuente respuesta positiva sobre la actividad ovárica y reproductiva.

Muchos de estos hallazgos han sido revelados a través del uso de técnicas de ultrasonografía transrectal, mostrando que los factores de tipo nutricional, el manejo y la época están relacionados con la dinámica del crecimiento folicular (Rhodes et al., 1995), que involucran complejas interacciones entre las secreciones del hipotálamo, la pituitaria y los ovarios (Badinga et al., 1994). El proceso de

crecimiento y regresión de folículos antrales que conlleva al desarrollo del folículo preovulatorio, ha sido ampliamente estudiado en razas Europeas *Bos taurus* (Savio et al., 1988; Sirois y Fortune, 1988; Ginther et al., 1989; Taylor y Rajamahendran, 1991; Badinga et al., 1994). El número de estudios en razas cebú (*Bos indicus*) y sus cruces es limitado (Figueiredo et al., 1997; Gambini et al., 1998; Henao et al., 2000; Molina, 2000; Moreira-Viana et al., 2000) y algo más escasa es la información en sistemas de producción con ganadería doble propósito. En tal sentido, el principal interés de esta investigación estuvo dirigido a evaluar la influencia de la época de parto, la condición corporal y el efecto de la duración de la suplementación estratégica (pre y post-parto) sobre los cambios en la actividad ovárica durante el post-parto temprano en vacas doble propósito de un rebaño representativo del Nororiente

del Estado Guárico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Desde el mes de Febrero de 2001 hasta el mes de Mayo de 2002 un total de 60 vacas doble propósito, mestizas Pardo Suizo x Cebú x Holstein, fueron sometidas a una suplementación basada en bloques multinutricionales (BM) al final de la gestación y durante los primeros noventa días en el post-parto.

Ubicación

El experimento se realizó en una finca ubicada en el Municipio Monagas (Parroquia Lezama), límite con el Sur de Aragua, perteneciente a la zona de vida Bosque Seco Tropical (Gómez *et al.*, 1982) y correspondiente al paisaje colinoso (Berroterán, 1988) de clima sub-húmedo-húmedo. La zona tiene un promedio de precipitación anual de 1050 mm con aproximadamente seis meses secos, y temperatura que oscila en promedio, entre 25,5-28,7°C.

Características de la unidad de producción

La unidad de producción tiene una superficie de 2350 Ha, de las cuales 1000 Ha, se utilizan para el cultivo de sorgo, 200 Ha están ocupadas mayormente por pastos nativos y cultivados de las especies *Panicum maximum* y *Cynodon sp.* e intercalados con árboles forrajeros de samán (*Pithecellobium saman*); Naranjillo (*Trichantera gigantea*) y Cují (*Prosopis juliflora*) y 700 Ha de bosque deciduo secundario.

Manejo de los animales

Se seleccionaron 60 vacas maduras entre 6,2 a 6,6 años de edad aproximadamente, con pesos entre 412-420 Kg y una condición corporal aceptable de 3,0 puntos en la escala NIRD (Fattet y Jaurena, 1988). Las hembras en diferentes estadios de gestación fueron incorporadas al experimento a partir de los 45 días antes del parto al momento del parto. Se constató la salud animal, verificando que los animales estaban negativos a brucelosis, leptospirosis y endoparásitos, además de las vacunaciones de rutina. Las vacas antes del inicio del ensayo se mantuvieron pastoreando en potreros de soca de sorgo y se les suministró 2 Kg por animal de una mezcla de maíz molido más gallinaza en una proporción de 60:40 (21% Proteína cruda, 3,4% Ca y 1,92% P) de manera de balancear la condición corporal y

el peso vivo de los grupos experimentales. Una vez incorporadas al manejo dentro del ensayo fueron separadas y trasladadas a otro potrero, conformando dos grupos experimentales: suplementadas durante 45 días antes del parto y 90 días post-parto (T1) y suplementadas solo a partir del parto durante 90 días (T2). Desde el parto, ambos grupos permanecieron juntos y fueron suplementados hasta los 90 días post-parto en un potrero de 30 Has, establecido con pasto Guinea (*Panicum maximum*) y pasto estrella (*Cynodon dactylon*), combinado con forraje nativo y con acceso a leguminosas arbustivas como: *Prosopis juliflora*, *Pithecellobium saman*, *Trichantera gigantea*. Además, se suministró agua a voluntad y se les dio acceso a comederos preparados con BM Supromin® (Nuveca). Diariamente en la mañana los animales eran conducidos a la sala de ordeño y ordeñados con apoyo del becerro y posteriormente fueron sometidos a amamantamiento restringido post-ordeño durante una hora, con separación de la vaca hasta el ordeño siguiente. El celo post-parto se constataba por observación visual. La monta era controlada. A los 40 días post-servicio se constataba la preñez, por palpación transrectal. Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado, siendo cada animal una unidad experimental.

Mediciones

En el animal

Peso corporal de los animales (PC)

Los animales seleccionados se pesaron con una balanza electrónica marca Ruderweight (Australia Ltd). Todos los animales se pesaron en las primeras horas de la mañana (ayuno previo y retiro de agua) antes del inicio del ensayo, durante la primera semana después del parto, y cada 15 días hasta concluir el ensayo, utilizando para ello una balanza electrónica.

Altura a la cruz (AC)

Considerando el efecto del grupo racial en vacas de doble propósito sobre la AC y el largo corporal señalado por Khalil y Vaccaro (2002), se incluyó la variable AC como medida de ajuste del modelo, medida a través de una varilla metálica desde el nivel de la pezuña hasta el extremo superior de la cruz al inicio del ensayo.

Condición corporal (CC)

Se registró a partir de la semana en que ocurrió el parto, usando la escala inglesa modificada

(NIRD) por Fattet y Jaurena (1988), en un rango de 1 a 5 puntos (1= muy flaca y 5= muy gorda) y con apreciaciones de 0,25 puntos de acuerdo a la metodología descrita por Edmonson *et al.* (1989).

En el sustrato alimenticio

Oferta de biomasa forrajera

Se determinó la cantidad de pasto presente al inicio del ensayo y por época, mediante el corte a nivel del suelo, según el método de Haydock y Shaw (1975), tomando diez (10) muestras en función de una transecta donde estuvieron representadas las variaciones vegetación-sustrato en el potrero. Las muestras se separaron para identificar las especies predominantes. La disponibilidad de la pastura fue expresada en términos de materia seca de biomasa forrajera (Kg) por unidad de área (Ha); Zemmenlink, 1980).

Consumo de suplemento (bloque)

El consumo de suplemento se estimó diariamente en ambos tratamientos por diferencia de peso entre el bloque ofrecido y el bloque rechazado en el comedero. Se relacionó el número de vacas suplementadas por los períodos de ocupación en el potrero y la permanencia del bloque en el comedero.

Análisis químico de los alimentos

Las muestras de suplemento y pasto obtenidas durante el ensayo se analizaron en el laboratorio de Investigación de Usos Múltiples (IDESSA) de la Universidad Rómulo Gallegos, y del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA) en Maracay, haciéndose análisis de materia seca (MS) y proteína cruda (PC), según los procedimientos de la AOAC (1975). El contenido de pared celular (FDN), se determinó por el método de Goering y Van Soest (1970). El contenido de calcio, se calculó por espectrofotometría de absorción atómica (Fick *et al.*, 1979) y el de fósforo por el método de colorimetría según Harris y Popat (1954).

Progesterona en leche descremada

Las muestras para la estimación de este parámetro se comenzaron a tomar dos veces por semana, los días miércoles y viernes, desde los 10 días post-parto, durante noventa días del post-parto o hasta confirmar la preñez.

La leche tomada al final del ordeño fue colectada en tubos de ensayo con material preservante (una pastilla de 0,1 g de azida de sodio) permaneciendo

en la finca, refrigerada a temperatura entre 4-7°C, durante cinco días cuando eran transportadas al laboratorio de Radioinmunoanálisis de la Universidad Rómulo Gallegos. Una vez en el laboratorio, se centrifugaban (*Fisher Scientific*) a 350 g durante 10-20 minutos y después de descremadas eran conservadas a -20°C, hasta su análisis. La determinación de la concentración de progesterona se realizó por el método de radioinmunoanálisis descrito por el manual de la FAO/IAEA (1988), con kits para progesterona en fase sólida (DPC-Diagnostic Product Corporation, CA, EUA) suministrado por FAO/IAEA y validado por Plaizier (1993). Todas las muestras fueron procesadas por duplicado. Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo para las mismas muestras conocidas de concentraciones bajas y altas fueron: intraensayo 1,51% y 1,54% e interensayo 4,49% y 5,83%. La sensibilidad del ensayo fue definida al 95% del total de unión (B₀/B) y fue de 0,24 nMol/L (0,07 ng/mL).

Ultrasonografía transrectal

Los ovarios fueron examinados dos veces por semana, después del ordeño, por ultrasonografía transrectal utilizando un escáner en tiempo real, modelo lineal (Aloka SSD 900. Co. LTD, Tokio, Japón) equipado con una sonda rectal de 7,5 MHz, para evaluar la población folicular, el folículo de mayor tamaño y la presencia o ausencia del cuerpo lúteo. Los folículos fueron medidos y clasificados según su diámetro en tres clases de acuerdo a lo establecido por Díaz *et al.* (1998): clase I (≤ 5 mm); clase II (6-9mm) y clase III (≥ 10 mm). El folículo dominante fue definido como aquel folículo > 10 mm presente en el ovario, en ausencia de otros folículos grandes (Murphy *et al.*, 1990). Simultáneamente se realizaron las palpaciones transrectales. Los hallazgos a nivel ovárico fueron seguidos por la progesterona cuantificada en leche descremada, colectada el mismo día del examen ecosonográfico. Así, la observación de una estructura ovárica fue confirmada por los niveles de progesterona en leche y viceversa. El tamaño y el número de folículos > 3 mm fueron registrados a través de mapas foliculares y fotografías de las estructuras ováricas por medio de una video impresora (SONY UP-890 MD/2, Japón), en cada vaca en ambos ovarios durante el período de evaluación.

Actividad luteal post-parto

Se asumió que el día de inicio de la actividad ovárica correspondió al momento en que la concentración de progesterona era ≥ 1 ng/mL. Para ello se consideró el inicio de la actividad luteal: cuando se observaron dos alzas consecutivas de progesterona, de acuerdo a FAO/IAEA (1988) y a los resultados en leche descremada señalados por Meisterling y Dailey (1987); Mc Sweeney *et al.* (1993); Looper *et al.* (1997); Lamming y Darwash, (1998) y Cavestany *et al.* (2001).

Manejo de los datos

Los datos fueron recolectados mediante un protocolo que registró la información de las distintas variables: tratamiento, vaca, EP, días post-parto, peso al parto, AC, CC al parto y durante el post-parto, nivel de progesterona (ng/mL), número de folículos por clase (I, II, III) y presencia o ausencia de cuerpo lúteo, estructurada en una matriz de datos codificados en una hoja de cálculo Microsoft Excel 2000.

Según la escala de medida, las variables cualitativas como la EP (1, 2, 3), fue a escala nominal y la CC (1-5) a escala ordinal. Las variables cuantitativas días post-parto y número de folículos se consideraron como variables discretas y el nivel de progesterona como variable continua. Se procedió a la ordenación de los datos según los valores que presentaron en la variable, como primer paso para obtener la distribución de frecuencias y construir tablas de frecuencia de datos o de distribución de intervalos en ambos tratamientos, para los 30, 60 y 90 días post-parto. Se realizaron pruebas de normalidad de los datos para determinar si los valores de la(s) variable(s) aleatoria(s) siguieron una distribución normal. Para ello se utilizó el estadístico de Wilks-Shapiro y pruebas de asimetría para intervalo parto-inicio de actividad luteal y para los datos de la variable relacionada con población folicular. Si la variable no seguía una distribución normal, pero su cuadrado medio del error estandarizado resultara que más del 95% de los valores estuvieron entre los valores normales, la variable fue analizada por métodos paramétricos. Para declarar la homogeneidad en la ocurrencia de los eventos a partir de las variables cualitativas de respuesta (% de vacas activas y no activas) se analizaron pruebas de homogeneidad de varianza (homocedasticidad), a través de tablas de contingencia de doble entrada, utilizando la prueba Chi-cuadrado (χ^2), midiendo la frecuencia observada

y esperada de la proporción de la actividad luteal en los tratamientos (a los 30, 60, 90 d). Estas pruebas fueron realizadas utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 7.5. Se realizaron análisis de correlación de *Pearson y Spearman* entre las variables de escala de intervalos y ordinales significativas, respectivamente.

Proporción de vacas con actividad luteal medida a través de progesterona en leche descremada

A partir de estos datos se formaron grupos con los atributos activos e inactivos, estos grupos fueron comparados mediante la prueba de χ^2 desarrollando tablas de contingencia, para analizar la relación entre estas variables T1 y T2, a los 30, 60 y 90 día post-parto. Igualmente, se aplicaron tablas de contingencia para las variables época y condición corporal. Así mismo, se determinó el intervalo parto inicio de actividad luteal entre tratamiento y se comparó a través de pruebas de rangos comparativas de medias.

Población folicular

Los datos fueron procesados a través del paquete estadístico SPSS, versión 7.5, utilizando el método de cuadrados mínimos (GLM) en un modelo lineal aditivo, con el propósito de llevar a cabo un análisis de varianza tomando como variable dependiente la población de las diferentes clases de los folículos presentes (I, II y III). Para estimar los efectos ambientales y de manejo se incluyeron los efectos de época de parto (1=pariciones en marzo, abril, mayo; 2=pariciones de Junio a Septiembre y 3=pariciones de octubre a enero); efecto fijo de tratamiento (1=suplementación pre y postparto; 2=suplementación desde el parto); condición corporal (1 = CC 2 puntos; 2 = CC $\geq 2,5$ puntos; 3 = CC >3 puntos), además de las interacciones, tratamiento por época y tratamiento por CC. La AC fue incluida como covariable continua y el error aleatorio sobre la variable respuesta, población folicular. La población de folículos clase III (≥ 10 mm) por no seguir una distribución normal fueron analizados a través del estadístico *Kruskal-Wallis* (métodos no paramétricos). En el análisis se incluyeron las variables: tratamientos (T1-T2); CC (2; $\geq 2,5$ y >3); EP (seca, lluviosa y lluvia-seca). Se construyeron figuras de curvas de sobrevivencia de las

variables evento-tiempo correspondiente al intervalo post-parto y días de aparición de folículos clase III, utilizando el procedimiento PROC LIFETEST del paquete estadístico SAS (2001). Las mismas se ajustaron usando el método de *Kaplan-Meir* para revisar si la función de sobrevivencia seguía una distribución exponencial.

Modelo lineal representativo de la población folicular clase I:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + Ep_j + CC_K + (Trat \times Ep)_{ij} + (Trat \times CC)_{ik} + AC(\text{covariable}) + e_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Representa el número de folículos clase I de acuerdo al tratamiento recibido y a la EP

μ = media general

T_i = efecto del i-ésimo tratamiento, donde $i = 1, 2$.

Ep_j = efecto del j-ésima época de parto de las vacas, donde $j = 1, 2, 3$.

CC_K = efecto de la k-ésima CC, donde $K = 1, 2, 3$.

$(Trat \times Ep)_{ij}$ = efecto de la interacción del i-ésimo tratamiento por la j-ésima época en que se realizó la medición.

$(Trat \times CC)_{ik}$ = efecto de la interacción del i-ésimo tratamiento por la k-ésima CC de las vacas en que se realizó la medición.

AC (Covariable) = Covariable AC.

e_{ijk} = el error aleatorio

Todos los términos se consideraron fijos y el error distribuido normalmente e independiente con media cero y varianza σ^2 , común para los tratamientos.

Modelo lineal representativo de la población folicular clase II:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + Ep_j + CC_K + AC(\text{covariable}) + e_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Representa la k-ésima observación del i-ésimo tratamiento

μ = media general

T_i = efecto del i-ésimo tratamiento, donde $i = 1, 2$.

Ep_j = efecto del j-ésima EP de las vacas en que se realizó la medición, donde $j = 1, 2, 3$.

CC_K = efecto de la k-ésima CC, donde $K = 1, 2, 3$.

AC (Covariable) = Covariable AC.

e_{ijk} = el error aleatorio

Cuerpos lúteos observados

Como las dójimas paramétricas no se cumplen habitualmente, en este caso (independencia de las muestras de la población e igual varianza), se aplican las dójimas de libre distribución o no paramétricas, por ser las más adecuadas para analizar la información con base en observaciones ordenadas. La dójima *H* de *Kruskal y Wallis*, se utilizó para docimar la hipótesis nula de que varias muestras independientes pertenecen a poblaciones idénticas. Para ello se utilizó la prueba de rangos, donde el estadístico *H* tiene una distribución de probabilidades que puede ser aproximada por la distribución χ^2 . La frecuencia de cuerpos lúteos observados por ultrasonografía fue analizada por tablas de contingencia a través de la prueba de χ^2 , considerando las variables: tratamiento, CC, EP, comparándolas con la presencia o no de cuerpos lúteos durante los 90 días del post-parto. Pruebas no paramétricas fueron utilizadas para medir diferencias entre los tratamientos y sus interacciones con la CC y EP.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Oferta, composición química del forraje y de los alimentos consumidos durante el período de ensayo

La oferta promedio de MS durante el ensayo osciló entre 800 Kg MS/Ha/año a 4540 Kg MS/Ha/año en la época seca y de lluvias, respectivamente.

La composición química de las muestras compuestas de las especies predominantes por época se muestra en la Tabla 1. El contenido de Proteína cruda registrada durante la época seca (2,3%), estuvo muy por debajo de los niveles mínimos (6-7%) de proteína, a partir de los cuales se estima comienza a verse limitado, tanto el consumo como las características productivas en los animales (Minson, 1981). La composición del suplemento, considerado de tipo proteico, con bajo nivel de nitrógeno no proteico se observa en la Tabla 2.

El consumo promedio de suplemento durante el período fue de $0,421 \pm 0,129$ Kg/anim/d. Cuando se analizó el consumo por mes, se observó que durante los meses de sequía el consumo fue mayor que durante los meses de lluvia.

De acuerdo a lo observado, la pastura sola

no logró cubrir los requerimientos nutricionales diarios de este nutriente para mantenimiento. Este déficit obedeció a la poca oferta de forraje (800 Kg de MS/Ha) y que no fue subsanado aún con lo aportado por el suministro de soca de sorgo (4 Kg/anim/d). El consumo del BM durante la época aportó aproximadamente 27% de los requerimientos de Proteína cruda y alrededor de 1,0 Mcal de EM. La CC mejoró con el avance hacia la época de transición y lluvia, al mejorar la oferta y el valor nutritivo del forraje. Para el periodo de lluvia fueron cubiertos teóricamente los requerimientos proteicos de mantenimiento. Se estima que el forraje aportó aproximadamente 44% de los requerimientos de energía y proteína metabolizable y el suplemento cubrió entre 37 y 56% de los requerimientos de proteína metabolizable, respectivamente (NRC, 1984). En base a lo anterior, los requerimientos energéticos de mantenimiento de las vacas fueron cubiertos en 70%, durante la época lluviosa.

Pesos y condición corporal al inicio y al final del ensayo

Se observó la ausencia de diferencias entre los grupos experimentales para las variables corporales al inicio y al final del ensayo (90 días post-parto). A pesar de que se observó un mayor valor absoluto en el PC promedio a la salida del ensayo del grupo suplementado pre-parto, no fue significativa estadísticamente (Tabla 3). Es posible que el bajo consumo del suplemento en ambos grupos, asociado a la restricción de la oferta forrajera a la que estaba sometida la totalidad del rebaño, haya impedido la manifestación de diferencias apreciables durante los primeros 90 días del post-parto.

Actividad luteal post-parto

El 41,3% de las vacas en el grupo T1 y el 21,7% de las vacas del grupo T2 mostró actividad luteal durante el período de evaluación de 90 días. No se encontraron diferencias significativas entre T1 y T2 al 95% de confianza ($p=0,3$). Sin embargo, la EP mostró diferencias significativas ($p<0,01$). La media y el error estándar de días de intervalo parto e inicio de la actividad luteal en T1 fue más corta ($48,7 \pm 9,3$ d) en comparación con el grupo T2 ($70,3 \pm 8,9$ d), considerando el número de vacas con actividad luteal ($n=20$) en ambos tratamientos (Tabla 4).

Se pudo observar que la diferencia en la frecuencia de actividad luteal durante los primeros 90 días post-parto no fue significativa entre los grupos suplementados (T1 y T2; Tabla 5), aunque hubo una mayor frecuencia de actividad en las vacas T1 (41,3%) en comparación con T2 (27,6%) entre los días 60 y 90 postparto (Tabla 5).

Efecto de tratamiento, época y condición corporal sobre la población folicular

Población folicular clase I (≤ 5 mm)

En el análisis de varianza de la población folicular ≤ 5 mm, no se observó efecto significativo de tratamiento sobre esta clase folicular (Tabla 6), pero las interacciones tratamiento por época y por CC resultaron significativas ($p<0,001$); (Tablas 7 y 8).

Población folicular clase II (6-9mm)

La distribución de la población folicular clase II (6-9 mm) no siguió una distribución normal ($Wilk\grave{s}$ - $Shapiro = 0,79$); sin embargo, mas del 95% de los valores del cuadrado medio del error estandarizado resultó entre valores por debajo o por encima de $2 <2>$, por lo que se procedió a analizar los datos por métodos paramétricos.

Tabla 1. Composición química promedio de la dieta basal de las especies predominantes durante la época seca y lluviosa

Época	Fracción Química de muestras compuestas de forraje						
	Proteína cruda (%)	Cenizas(%)	EE(%)	FDA(%)	FDN(%)	Ca(%)	P(%)
Seca	2,3	8,5	-	-	0,30	0,11	
Lluviosa	14,0	9,52	1,53	38,84	50,71	1,55	0,23

EE: extracto etéreo; FND: fibra neutro detergente; FDA: Fibra ácida detergente, Ca: calcio; P: fósforo

Tabla 2. Composición química del suplemento (Bloque multinutricional-Supromin®) en base seca

Bloque	Fracción Química %						
	Proteína cruda	Cenizas	EE	FDA	FND	Ca	P
Supromin®	27,8	1,71	5,7	22,23	27,05	5,6	1,10

EE: extracto etéreo; FDA: fibra detergente ácida; FND: fibra neutro detergente; Ca: calcio; P: fósforo

Tabla 3. Promedios de peso y condición corporal al inicio y al final del experimento

Variables	Suplementación pre-postparto (T1)	Suplementación post-parto (T2)
Peso al parto (Kg)	350 ± 50	356,8 ± 50,7
Condición corporal al parto	2,5 ± 0,22	2,73 ± 0,32
Peso final (Kg) 90 días	381,6 ± 50,4	368,5 ± 41,3

El análisis de varianza de la población folicular clase II (6-9 mm) mostró un efecto significativo del tratamiento ($p < 0,01$) sobre la población folicular clase II (Tabla 6). Hubo efecto significativo ($p < 0,001$) de la CC sobre la actividad folicular en esta fase (Tabla 7). Sin embargo, la época no mostró efecto sobre la variable dependiente (Tabla 8).

Población folicular clase III ($\geq 10\text{mm}$)

La población folicular clase III fue analizada por métodos no paramétricos (*Kruskal-Wallis*). De acuerdo a la prueba no hubo diferencias estadísticas ($p = 0,6$) en el total de folículos clase III en vacas suplementadas durante el pre-parto y durante el post-parto (T1) y vacas suplementadas durante el post-parto (T2) (Tabla 6). Hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,00001$) en el número total de folículos clase III ($\geq 10\text{mm}$) entre las vacas con CC pobre (2), moderada ($\geq 2,5$) y buena (> 3); entre las épocas de parto ($p < 0,00001$), seca, lluviosa y lluvia-seca, como se observa en las Tablas 7 y 8.

Efecto sobre el número de cuerpos lúteos observados

La frecuencia de cuerpos lúteos observados y no observados por tratamiento y CC no resultó estadísticamente diferente ($p > 0,05$) a la prueba de χ^2 . Sin embargo, el χ^2 total fue significativo ($p < 0,003$) para la EP, sobre la proporción de vacas que presentaron cuerpos lúteos. De las 60 vacas del ensayo, sólo 35% de ellas ($n = 21$) exhibió cuerpos

lúteos. La proporción observada de cuerpos lúteos en las vacas durante el período de 90 días post-parto, por EP fue: 14,28% en época seca; 48% en época lluviosa y 71,4% en la época de lluvia-seca.

Un mayor número de folículos pequeños ($\leq 5\text{mm}$), medianos (6-9mm) y grandes ($\geq 10\text{mm}$) ha sido señalado como un indicador de actividad folicular ovárica (Álvarez *et al.*, 2000), lo cual obedece a cambios en los patrones de secreción de FSH, insulina e IGF-I. Sin embargo, la población folicular alcanzada por vacas en un mismo ambiente no necesariamente conduce a una mayor fertilidad, como consecuencia de las características fisiológicas individuales en las vacas (Oliveira *et al.*, 2002).

En este estudio, la población de folículos pequeños ($\leq 5\text{mm}$) no fue afectada ($p = 0,19$) por la suplementación pre y postparto, aunque se observó una ligera tendencia en las vacas T1 sobre las vacas T2. A respuestas similares condujeron los trabajos realizados por Vásquez (1999) suplementando con proteína sobre-pasante a vacas Brahman, a pesar de que el número de folículos pequeños encontrados en este ensayo con vacas mestizas, fue superior al señalado por Vásquez (1999) con vacas cebú. Este mismo hallazgo ha sido señalado por Figueiredo *et al.* (1997). Contrariamente a las diferencias encontradas por Vásquez (1999), entre los tratamientos sobre el número de folículos medianos (6-9 mm) en vacas Brahman, en este experimento no hubo diferencias entre tratamientos T1 = $1,48 \pm 0,09$ vs T2 = $1,75 \pm 0,1$.

Grimard *et al.* (1995), señalaron que el aporte

Tabla 4. Media y error estándar del intervalo parto-inicio de la actividad luteal en vacas de doble propósito suplementadas desde 45 d pre-parto (T1) y desde el día de parto (T2)

Tratamiento	Intervalo parto - inicio de la actividad luteal (días)				
	n	Media	Error estándar	Limite superior	Limite inferior
T1	12	48,7	9,3	34,8	62,5
T2	08	70,3	8,9	57,1	83,5
TOTAL	20	60,0			

Tabla 5. Frecuencia de la actividad luteal en vacas suplementadas preparto-postparto (T1) vs vacas suplementadas post-parto (T2)

Días post-parto hasta	χ^2	p	Actividad Luteal							
			Activas				Inactivas			
			T ₁		T ₂		T ₁		T ₂	
n	%	n	%	n	%	n	%			
30	0,35	0,55	2	6,8	1	3,4	27	93,1	28	99,5
60	1,07	0,30	3	10,3	1	3,4	26	89,6	28	99,5
90	1,22	0,26	12	41,3	8	27,6	17	58,6	21	72,4

χ^2 : Chi-cuadrado; p: probabilidad (Pearson)

Tabla 6. Medias y error estándar del número de folículos por clase y cuerpos lúteos en vacas suplementadas (T1 y T2)

Parámetros:	Tratamientos			
	Pre-postparto (T1)		Postparto (T2)	
	Media	E.E	Media	E.E
Clase folicular I (≤ 5 mm)	10,16		9,22	
(n)	(567)	0,29	(571)	0,41
Clase folicular II (6-9 mm)	1,48 ^a		1,75 ^b	
(n)	(567)	0,09	(571)	0,11
Clase folicular III (≥ 10 mm ¹)	0,45		0,48	
(n)	(566)	0,02	(571)	0,02
Cuerpo Lúteo ¹	0,04		0,05	
(n)	(566)	0,008	(571)	0,009

(n) = número de observaciones.

Letras diferentes en la misma fila denota diferencias significativas al $p < 0,05$

¹ Analizadas por *Kruskal-Wallis*; $p=0,3$; CL $p=0,6$

nutricional no influyó sobre el número de folículos pequeños y medianos, pero si sobre folículos de tamaño grande. Igualmente, Lucy *et al.* (1991) indicaron que las vacas post-parto suplementadas con fuentes energéticas adicionales, exhibieron pocos folículos pequeños y un mayor número de folículos grandes. El hecho de no encontrar diferencias entre tratamientos sobre la población de folículos pequeños en este ensayo, es explicado por Murphy *et al.* (1991) y Stagg *et al.* (1995), quienes señalaron que los procesos de crecimiento y desarrollo folicular son independientes del nivel nutricional y del mamado del becerro, pero los eventos finales de maduración folicular requieren de incrementos en la concentración

y frecuencia pulsátil de LH (Fortune, 1994; Baruselli *et al.*, 2004), para lo cual influiría los niveles de reservas energéticas del animal, la pérdida de CC (Bean y Butler, 1997), la presencia del becerro y el estímulo del mamado (Roche *et al.*, 1992). Los resultados obtenidos en vacas del grupo T1 y que parieron en la época seca (febrero-mayo) y durante el período de transición (octubre-enero), reflejaron un mayor número de folículos pequeños.

Por otro lado, el desarrollo de folículos grandes (≥ 10 mm), de acuerdo a la EP de las vacas, fue afectado por la suplementación (T1 y T2), especialmente en la época seca (menor población folicular). Posiblemente, una mayor restricción

Tabla 7. Medias y error estándar del número de folículos por clase folicular y cuerpos lúteos en vacas doble propósito con diferente CC postparto

Parámetros	Condición Corporal					
	2		≥2,5		>3	
	Media	E.E	Media	E.E	Media	E.E
Clase folicular						
I (≤ 5 mm)	9,38 ^a (120)	0,52	8,98 ^a (577)	0,28	10,71 ^b (441)	0,32
II (6-9 mm)	0,97 ^a (120)	0,18	1,76 ^b (577)	0,09	2,11 ^b (441)	0,09
III (≥10 mm ^l)	0,45 ^a (119)	0,03	0,35 ^a (577)	0,02	0,69 ^b (422)	0,03
Cuerpo lúteo ^l	0,008 (120)	0,008	0,03 (577)	0,008	0,06 (441)	0,011

(n) número de observaciones.

Letras diferentes en la misma fila denota diferencias significativas (p<0,05).

^l Analizadas por *Kruskal-Wallis*; (p<0,0001); Letras diferentes en la misma fila a, b (p<0,01). CL: (p=0,01)

Tabla 8. Medias y error estándar de la población folicular y presencia de cuerpo lúteo en vacas de doble propósito pariendo en diferentes épocas

Parámetros	Época de parto					
	mar-may		jun-sep		oct-ene	
	Media	E.E	Media	E.E	Media	E.E
Nº de folículos						
I (≤ 5 mm)	11,14 ^a (556)	0,26	10,71 ^a (463)	0,30	7,23 ^b (119)	0,62
II (6-9 mm)	1,46 ^a (556)	0,08	1,58 ^a (463)	0,10	1,80 ^a (119)	0,18
III (≥10 mm ^l)	0,26 ^a (556)	0,02	0,61 ^b (463)	0,02	0,89 ^c (119)	0,05
Cuerpo lúteo ^l	0,02 (556)	0,006	0,06 (463)	0,01	0,08 (119)	0,02

(n) número de observaciones.

Letras diferentes en la misma fila denota diferencias significativas (p<0,05)

^l Analizadas por *Kruskal-Wallis*; (p<0,0001); Letras diferentes en la misma fila a, b (p<0,01). CL: (p=0,01)

en el consumo energético retrasó el desarrollo de folículos grandes (Randel, 1984; Galina y Arthur, 1989; Rhodes *et al.*, 1993; Ryan *et al.*, 1994). El crecimiento del folículo pre-ovulatorio, posiblemente fue afectado por cambios en el balance energético (Lucy *et al.*, 1992), debido a que los niveles de energía consumida vía pastos y suplementación con bloques no alcanzaron cubrir, teóricamente, los requerimientos de las vacas durante los meses críticos de sequía. En consecuencia, la existencia del efecto estacional sobre la población folicular en vacas en condiciones tropicales resulta relevante (Barros *et al.*, 1995). Las diferencias en la población folicular por época, en las interacciones entre tratamiento y época, y la mayor proporción de cuerpos lúteos en vacas que parieron durante las épocas lluviosa

(48%) y de transición, lluvia-sequía (71,4%) sobre las vacas paridas en época seca (14,28%), señalaron tendencias en este sentido. Respuestas similares han sido encontradas en vacas cebuínas por Molina (2000) en el trópico mexicano, donde el cambio de época y la suplementación mejoraron la respuesta superovulatoria.

La CC tuvo un moderado impacto en el desarrollo inicial de los folículos. En las vacas de moderada y buena CC, los folículos medianos fueron en mayor número que en las vacas de pobre CC. En el presente estudio, las vacas con buena CC (≥3) exhibieron mayor número de folículos grandes (≥10 mm) que vacas con pobre (2) y moderada (≥2,5) CC (p<0,0001). Bean y Butler (1997), señalaron que un mejor balance energético influye sobre el número

de folículos grandes en las vacas de buena CC; sin embargo, el amamantamiento del becerro ejerce una influencia en la fase final de la maduración folicular (Roche *et al.*, 1992; 2000). Igualmente, se ha señalado que la proporción de ovocitos normales en la población folicular pequeña, mediana y grande, aumenta en la medida que mejora la condición corporal de la vaca (Domínguez, 1995). Rhodes *et al.* (1995), indicaron que vacas ganando peso y condición corporal presentaban un incremento lineal en el tamaño folicular hasta el inicio de la ovulación y que el inicio del anestro nutricional era precedido por una disminución lineal en el tamaño de los folículos dominantes y cuerpo lúteo, proporcional a la pérdida de peso corporal.

En el presente estudio, las vacas que presentaron mejor CC durante el post-parto temprano (buena condición al parto o mantuvieron buena CC post-parto) presentaron mayor número de folículos clase III (≥ 10 mm). Es posible que este hallazgo haya tenido relación con el hecho que las vacas de moderada y buena CC hayan exhibido mayor número de cuerpos lúteos que las vacas de pobre CC. Sin embargo, la alta proporción (65%) de vacas sin cuerpos lúteos observados por ultrasonido y palpación rectal antes de los 90 días de la evaluación, posiblemente fue producto de una falla en el crecimiento final de los folículos dominantes y en consecuencia hayan entrado en una fase de anestro nutricional o anovulación, influenciado de manera significativa por la EP de la vaca ($p < 0,003$).

La Figura 1, ilustra la tendencia en el desarrollo de folículos clase III (dominantes) en las vacas durante los primeros 45 días post-parto. Antes de los 28 días post-parto no exhibieron estructuras foliculares grandes. Pero se evidenció que las vacas con buena CC (3), tendieron a desarrollar folículos grandes (≥ 10 mm) a partir del día 37 y la totalidad de ellas, a los 40 días del post-parto, en comparación con las vacas de pobre CC (2) y de condición moderada ($\geq 2,5$), las cuales completaron su desarrollo posterior a los 45 días post-parto.

En vacas paridas durante la época de transición (lluvia-seca) se observó un mayor número de folículos grandes ($p < 0,01$), en días más temprano durante el post-parto. La Figura 2 muestra que a los 36,5 días post-parto la totalidad de las vacas paridas, en época de lluvia-seca, habían presentado folículos grandes

en comparación con los 45 días que requirieron las vacas paridas en época de sequía y de lluvias. Estas diferencias podrían encontrar una explicación en lo señalado por Jolly *et al.* (1995), quienes evaluaron el efecto de los niveles de la restricción nutricional sobre el desarrollo folicular. Una restricción moderada interfiere con los mecanismos de maduración folicular y ovulación; una restricción pronunciada interfiere con los mecanismos que regulan el tamaño y la dinámica del folículo dominante; una restricción severa está asociada con la falta de crecimiento de folículos grandes y una restricción extrema promueve totalmente la ausencia de folículos ≥ 5 mm.

La ocurrencia de los cambios en la CC y en el balance energético post-parto, y su relación con los eventos de crecimiento folicular ha sido señalada en la literatura. Sin embargo, se podría especular que ante la existencia de una alta correlación entre el tiempo transcurrido desde el punto más bajo (Nadir) de CC y/o de los cambios en el balance energético negativo y la primera ovulación (Canfield y Butler, 1990) y la pulsatilidad de LH con los cambios en el balance energético del animal (Bean y Butler, 1997; Roche *et al.*, 2000) durante el post-parto temprano (7 - 19 d), existe la posibilidad de que los cambios en la CC observados en las vacas que parieron en la época de sequía, hayan interferido con los mecanismos de maduración folicular de las vacas durante el post-parto, expresados en un menor número de folículos grandes (≥ 10 mm) y en su aparición tardía durante el post-parto, al compararlos con las vacas que paren en la época de transición.

Lucy *et al.* (1992), indicaron que el número de folículos grandes durante el post-parto en vacas lecheras es proporcional a los incrementos en el balance energético, cuyas diferencias significativas en el desarrollo folicular fueron relacionadas con la CC. El balance energético en el periodo inicial del post-parto estuvo correlacionado positivamente con el reclutamiento folicular. Además, se ha señalado que el número y la calidad de los ovocitos de los folículos son adversamente afectados por la baja CC de la vaca, disminuyendo la fertilidad (Domínguez, 1995).

CONCLUSIÓN

El estudio demostró que pocas vacas exhibieron actividad luteal durante el periodo de evaluación.

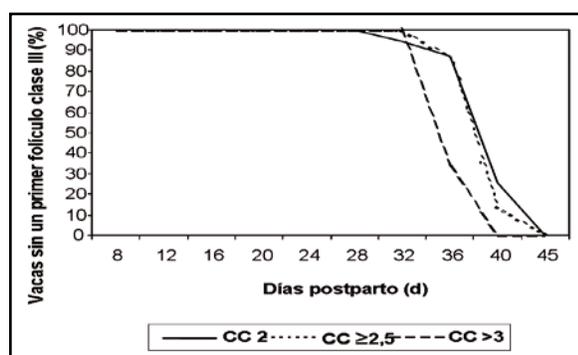


Figura 1. Curva de supervivencia para días a la aparición de folículos dominantes (>10mm) en vacas con diferente condición corporal en el post-parto temprano

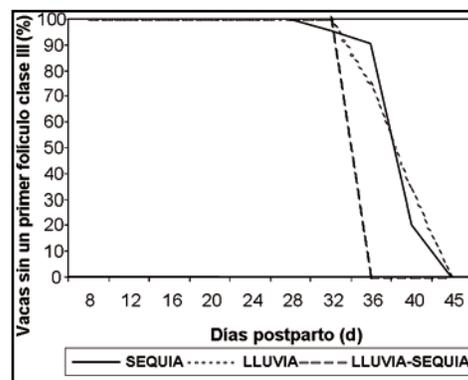


Figura 2. Curva de supervivencia para días a la aparición de folículos dominantes (>10mm) en vacas a diferentes épocas de parto (Sequía, Lluvia y Lluvia-sequía).

La suplementación no afectó significativamente la población folicular de folículos pequeños (≤ 5 mm) y grandes (≥ 10 mm), pero sí a folículos medianos (6-9 mm). Hubo un efecto manifiesto de la condición corporal al parto. Las vacas en buena condición corporal (> 3) expresaron una mayor actividad ovárica reflejada en una mayor población folicular (clases I, II, III). El mayor número de folículos grandes (≥ 10 mm), ocurrió en vacas que parieron en época de transición lluvia-sequía. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre la duración de la suplementación (T1 y T2) sobre el intervalo parto e inicio de actividad luteal, ni en la frecuencia de actividad luteal. El número de cuerpos lúteos observados no fue afectado por los tratamientos, pero la mayoría de éstos fueron observados en vacas que parieron durante la época de transición lluvia seca (71,4%). Se concluye que existe un posible efecto de la época de parto y de la CC sobre la actividad ovárica (población folicular y cuerpo lúteo). Indicando fallas en el crecimiento final de los folículos dominantes, inducido por deficiencias nutricionales, afectando el comportamiento reproductivo antes de los 90 días post-parto.

Bajo las condiciones experimentales a nivel de finca, con restricciones en la oferta permanente de forraje, la suplementación preparto no logró mejorar sustancialmente la actividad ovárica del rebaño, contrariamente a lo señalado en otras condiciones.

AGRADECIMIENTOS

Al Organismo Internacional de Energía Atómica, a través del Proyecto VEN/5/021 y al Fondo Nacional

de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, a través del Proyecto de grupo G-9700712.

REFERENCIAS

- Alvarez, P.; Spicer, L. J.; Chase, C.C. JR.; Payton, M. E.; Hamilton, T. D.; Stewar, R. E.; Hammon, A. C.; Olson, T. A.; Wetteman, R. P. 2000. Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman and Senepol cows in a subtropical environment. *J. Anim. Sci.*; 78:1291-1302.
- AOAC. 1975. Official Methods of Analysis. 12th Ed. Association of Agricultural Chemists. 1094 p, Washington, D.C.
- Badinga, L.; Thatcher, W. W.; Wilcox, C. J.; Morris, G.; Enwistle, K.; Wolfenson D. 1994. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol-17 β , progesterone and luteinizing hormone in lactating Holstein cows. *Theriogenology.*, 42:1263-1274.
- Barros, C. M.; Figueiredo, R. A.; Pinheiro, G. L. 1995. Estro, ovulação, e dinâmica folicular en zebuinos. *Rev. Braz de Reprod. Anim.*, 19:9-22.
- Baruselli, P.S.; Reis, E.L.; Marques, M.O.; Nasser, L.F.; Bó, G.A. 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim. Reprod. Sci.*, 82-83:479-486.
- Bean, S. W.; Butler, W. R. 1997. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol. Reprod.*, 56:133-142.
- Berroterán, J. L. 1988. Paisajes ecológicos de sabanas en llanos altos centrales de Venezuela. *Ecotrópicos.*, 1:92-107.
- Canfield, R. W.; Butler, W. R. 1990. Energy balance

- and pulsatile LH secretion in early post-partum dairy cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 7:323-330.
- Cavestany, D.; Galina, C. S.; Viñoles, C. 2001. Efecto de las características del reinicio de la actividad ovárica posparto en la eficiencia reproductiva de vacas Holstein en pastoreo. *Archivo Medicina Veterinaria*, 33:217-216.
- Díaz, T.; Schmitt, E. J. P.; De La Sota, R. L.; Thatcher, M. J.; Thatcher W. W. 1998. Human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *J. Anim. Sci.*, 76:1929-1936.
- Domínguez, M. M. 1995. Effect of body condition, reproductive status, and breed on follicular populations and oocyte quality in cows. *Theriogenology*, 43:1405-1418.
- Edmonson, A. J.; Lean, I. J.; Weaver, L. D.; Fancer, T.; Webster, G. 1989. A body condition score chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy. Sci.*, 42:68-78.
- Fattet, I. M.; Jaurena. 1988. El estado corporal de las vacas lecheras. Ed. Hemisferio Sur Buenos Aires, Argentina, 5p.
- Fick, K.; L. McDowell, P.; Miles, P.; Wilkinson Funk, J.; Conrad, J.; Valdivia R. 1979. Análisis por espectrofotometría de absorción atómica. En: *Métodos de análisis de minerales para tejidos de plantas y animales*. 2da Ed. Latin American Mineral Research Program. Florida, pp.701-707.
- Figueiredo, R. A.; Barros, C. M.; Pinheiro, O. L.; Soler, J. M. P. 1997. Ovarian follicular in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Theriogenology*, 47:1489-1505.
- Food Agricultural Organization/Atomic International Agency Energy. 1988. The FAO/IAEA Progesterone RIA Kit. Agriculture Laboratory Seibersdorf, Austria. Animal Production and Health Unit. 25 p. Viena. Austria.
- Fortune, J. E. 1994. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol. Reprod.*, 50:225-232.
- Galina, C. S.; Arthur, G. H. 1989. Review of cattle reproduction in the tropics. Part. 3 and 4. Puerperium. Oestrous cycles. *Anim. Breeding Abstr.*, 57:679-686./58:697-707.
- Gambini, A. L. G.; Moreira, M. B. P.; Castilho, C.; Barros, C. M. 1998. Desenvolvimento folicular e sincronização em vacas da raça Gir. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 22:201-210.
- Ginther, O. J.; Knopf, L.; Kastelic, J. P. 1989. Temporal association among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fert.*, 87:223-230.
- Goering, H.; Van Soest, P. 1970. Forage fiber analysis. Agricultural Research Service. U.S. Department of Agriculture, Handbook. pp. 21-30.
- Gómez, N.; Riera, A.; Sánchez, A.; Arias, L. 1982. Diagnóstico Agro Ecológico del Estado Guárico. Fonaiap-Ciarllacen., Serie C N°1. 7p.
- Grimard, B.; Humbolt, P.; Ponter, A.; Mialot, J.; Sauvart, D.; Thibier, M. 1995. Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and oestradiol secretion and follicular development in suckled beef cows. *J. Reprod. Fert.*, 104:173-179.
- Harris, W.; Popat, P. 1954. Determination of the phosphorus content. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 32:124-127.
- Haydock, K.; Shaw, N. 1975. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Aust. J. Exp. Agri. Anim. Husb.*, 15:665-670.
- Henaó, G.; Olivera-Angel, M., Maldonado-Estrada, J. G. 2000. Follicular dynamics during post-partum anestrus and the first estrous cycle and the suckled and non-suckled Brahman (*Bos indicus*) cows. *Animal Reprod. Sci.*, 63:127-136.
- Jolly, P. D.; MacDougall, S.; Fitzpatrick, L.; Macmillan K. L., Entwistle K. W. 1995. Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. *J. Reprod. Fert.*, 49:477-492.
- Khalil, R.; Vaccaro, L. 2002. Peso y mediciones corporales en vacas de doble propósito: su interrelación y asociación con valor genético para tres características productivas. *Zoot. Trop.*, 20:11-30.
- Lamming, G. E.; Darwash, A. O. 1998. The use of milk progesterone profiles to characterise components of subfertility in milked dairy cows. *Anim Reprod. Sci.*, 52:175-190.
- Looper, M. L.; Lents, C. A.; Vizcarra, J. A.; Wetteman, R. P. 1997. Effects of body condition on luteal activity and estrus in post-partum beef cattle cows. *Oklahoma. Agricultural. Experimental. Station. Research Report.*, 958:159-159.
- Lucy M. C.; Beck, J.; Staples, C. R.; Head, H. H.; De la Sota. R. L., Thatcher, W. W. 1992. Follicular dynamics, plasma metabolites, hormones and insulin-like growth factor (IGF-I) in lactating cows with positive or negative energy balance during the preovulatory period. *Reprod. Nutr. Dev.*, 32:331-341.
- Lucy, M. C.; Staples, C. R.; Michel, F. M.; Thatcher, W. W. 1991. Energy balance and size and numbers of ovarian follicles detected by ultrasonography in early post-partum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 74:473-482.
- Mc Sweeney, C. S. P.; Kennedy, M.; D Occhio, M. J.; Fitzpatrick, L. A.; Reid, D.; Entwistle, K. W. 1993. Reducing post-partum Anoestrus interval in first-calf *Bos indicus* crossbred beef heifers. II. Responses to

- weaning and supplementation. *Aust. J. Agric. Res.*, 44:1079-92.
- Meisterling, E. M.; Dailey, R. A. 1987. Use of concentrations of progesterone and estradiol-17 β in milk in monitoring post-partum ovarian function in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 70:2154-2161.
- Minson, D.J. 1981. Nutritional differences between tropical and temperate pasture. In: *Grazing animals* (Edit H.Morley) Amsterdam, pp.143-158.
- Molina, E.J.J. 2000. Efecto de la adición de somatotropina bovina al tratamiento de Folltropin-V sobre la respuesta superovulatoria y cantidad de embriones transferibles en vacas cebuínas superovuladas en dos épocas de año en el trópico húmedo Mexicano. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México. 68 p. (Resumen).
- Moreira-Viana, J. H.; Ferreira, A. D. M.; de SA, W. F.; Almeida Camargo, L. S. 2000. Follicular dynamics in zebu cattle. *Pesq. Agrop. Bras.* Brasilia, 35:2501-2509.
- Murphy, M. G.; Boland, M. P.; Roche, J. F. 1990. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckled cows. *J. Reprod Fertil.*, 90:523-533.
- Murphy, M. G.; Enright, W. J.; Crowe, M. A.; McNennell, K.; Spicer, L. J.; Boland, M. P.; Roche, J. F. 1991. Effects of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle in beef heifers. *J. Reprod. Fertil.*, 92:333-338.
- N.R.C. 1984. Nutrient requirements of beef cattle. 6th ed., Natural Academy Press, Washington, D.C.
- Oliveira, J. F. C.; Neves, J. P.; Moraes, J. C. F.; Concalves, P. B. D.; Bahr J. M.; Hernández, A. G.; Costas, L.F.S. 2002. Follicular development and steroid concentration in cows with different levels of fertility raised under nutritional stress. *Anim. Reprod. Sci.*, 73:1-10.
- Plaizier, J. C. B. 1993. Validation of the FAO/IAEA. RIA Kit for the measurement of progesterone in skim milk and blood plasma. In: *Improving the productivity of indigenous African livestock*. International Atomic Energy Agency, IAEA-TELDOC-708, Vienna, Austria, pp.151-156.
- Randel, R. D. 1984. Seasonal effects on female reproductive functions in the bovine (Indian Breeds). *Theriogenology*, 21:170-185.
- Rhodes F. M.; Fitzpatrick, L. A.; Kinder J. E.; Enwistle, K. W. 1993. Changes in ovarian morphology associated with dietary intake in *Bos indicus* heifers. En: *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.*, 35 p.
- Rhodes, F. M.; Fitzpatrick, L. A.; Enwistle, K. W.; De'ATH, G. 1995. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after anoestrous. *J. Reproduc Fertil.*, 104:41-49.
- Roche J. F.; Mackey, D.; Diskin, M. D. 2000. Reproductive management of postpartum cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 60-61:703-712.
- Roche J. F.; Crowe, M. A.; Boland, M. P. 1992. Post-partum anoestrous in dairy and beef cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 28:371-378.
- Ryan, D. P.; Spoon, R. A.; Griffith, M. K.; Williams, G. L. 1994. Ovarian follicular recruitment, granulosa cell steroidogenic potential and growth hormone/insulin-like growth factor-I relationships in suckled beef cows consuming high lipid diets: effect of grades differences in body condition maintained during the perpuerium. *Dom Anim Endocr.*, 11:161-174.
- SAS. 2001. User's guide. Statistics. 8th ed. Cary (NC): SAS Institute Inc.
- Savio, J. D.; Keenan, L.; Boland, M. P.; Roche, J. F. 1988. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fert.*, 38:633-671.
- Sirois, J.; Fortune, J. E. 1988. Ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifers monitored by real time ultrasonography. *Biol. Reprod.*, 39:308-317.
- Stagg, K.; Diskin M. G.; Sreenan J. M.; Roche J.F. 1995. Follicular development in long-term anoestrous suckled beef cows fed two levels of energy post-partum. *Anim. Reprod. Sci.*, 38:49-61.
- Taylor, C.; Rajamahendran, R. 1991. Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.*, 71:61-68.
- Vásquez, M. B. 1999. Comportamiento reproductivo de vacas Brahman de primera lactancia suplementadas con proteína sobrepasante. Trabajo de grado. Magister Scientiarum. Postgrado en Reproducción Animal y Tecnología de la Inseminación Artificial. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela, Maracay, Aragua, Venezuela, 60 p.
- Zemmenlink, G. 1980. Effect of selective consumption on voluntary intake and digestibility of tropical forages. Agricultural Research Reports No. 896. Pudoc, Wageningen, The Netherlands, 100 p.