



096921

TODAS LAS COSAS BRILLANTES Y HERMOSAS,  
TODAS LAS CRIATURAS GRANDES Y PEQUEÑAS,  
TODAS LAS COSAS SABIAS Y MARAVILLOSAS,  
TODAS LAS HIZO EL SEÑOR NUESTRO DIOS.

CECIL FRANCES ALEXANDER (1818-1895).

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO BAJO LA SUPERVISION DEL M.en C. JORGE I.  
OLIVERA LOPEZ, LABORATORIO DE REPRODUCCION DE BOVINOS, UNIVERSIDAD  
AUTONOMA METROPOLITANA - UNIDAD IZTAPALAPA. DIVISION DE CIENCIAS -  
BIOLOGICAS Y DE LA SALUD. FUE PARCIALMENTE FINANCIADO POR LA DIRE-  
CCION GENERAL DE INVESTIGACION CIENTIFICA Y SUPERACION ACADEMICA DE  
LA S.E.P. CONVENIO No: C89-01-0216/ No.DE CTA. 2115-8785.

## AGRADECIMIENTOS

El autor desea expresar su más sincero agradecimiento a las autoridades de la Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca, porque gracias a su constante apoyo fue posible que un servidor pudiera alcanzar ésta meta t n importante en su vida personal y académica ( Convenio U.A.B.J.O. celebrado en la Cd. de Oaxaca de Juárez y firmado a los doce días del mes de enero de 1988, el cual asimismo fue ratificado y prorrogado por seis meses de acuerdo al Convenio firmado el día 19 del mes de febrero de 1990).

De igual manera hago patente mi agradecimiento a Subsecretaría de Educación Superior e Investigación Científica, asi como a la Dirección General de Investigación científica y Superación Académica de la S.E.P. por el apoyo económico brindado durante los dos años de estudio de la presente Maestría (Programa especial de becas para profesores de carrera de la Universidad, según convenio número C 87-06-0021 de fecha tres de febrero de 1987, S.E.P.- U.A.B.J.O.).

Al M. en C. Jorge I. Olivera López porque gracias a su apoyo constante y a su gran capacidad y experiencia profesional y científica fue posible la culminación del presente trabajo.

Al M. en C. José Juan Martínez Maya por el apoyo desinteresado y fraternal que me brindó durante la etapa del análisis estadístico de los resultados obtenidos en el presente estudio.

Asimismo, manifiesto mi máximo agradecimiento a todos los profesores y autoridades académicas y administrativas de la Maestría, por sus sabios consejos y enseñanzas los cuales siempre estarán presentes en mi pensamiento y en mi ejercicio profesional.

Al Sr. José Ramon Barbon Suarez, porque me brindó todas las facilidades para trabajar en su Rancho "Guadalupe" y de igual manera me brindó su amistad.

## DEDICATORIA

A la memoria de mi abuelito, Sr. Trinidad Martínez Alavez porque su gran sabiduría y nobleza me enseñaron que lo más importante en la vida es - respetar a nuestros semejantes y amar a la naturaleza.

A la memoria del Dr. Jorge Tolosa Sanchez quien me brindó todo su apoyo y amistad durante mi formación profesional y su ejemplo y entusiasmo en la labor académica y científica me motivaron a realizar estudios de posgrado.

Al Sr. Licenciado en Derecho, Abraham Martínez Alavez Catedrático y Ex-Rector de la Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca porque su - larga trayectoria académica y amor por la Universidad me han servido de inspiración en mi formación profesional. Pienso que su principal enseñanza para mi vida es que el hombre nunca debe olvidarse de su origen y debe respetar y si es posible ayudar a sus semejantes sin importar su preparación, ni su condición económica.

A mis Padres, porque ha medida que pasa el tiempo puedo asimilar más profundamente su amor y ello me motiva ha respetarlos, admirarlos y amarlos - más intensamente cada día que pasa.

A mis queridos Hermanos, porque puedo ver en sus vidas la realización de los sueños de mis Padres y ello me hace sentir afortunado.

A mi querida Esposa, porque su amor y comprensión me han servido de inspiración durante la realización del presente trabajo, además que se ha - constituido en una ayuda idónea en mi vida.

## LISTA DE ABREVIATURAS

E <sub>2</sub>	Estradiol
DMSH	Diferencia Media Significativa Honesta
LH	Hormona Luteinizante
OVN	Órgano Vomeronasal
RF	Reflejo de Flehmen
T	Testosterona

# C O N T E N I D O

I.	<u>I N T R O D U C C I O N</u>	
	1. IMPORTANCIA DE LA LIBIDO EN LA REPRODUCCION .....	1
	2. EL PAPEL DE LAS FEROMONAS EN LA REPRODUCCION.....	6
	3. IMPORTANCIA DE LA OLFACTION EN LA FISILOGIA REPRODUCTIVA.....	10
	4. PATRON DE CONDUCTA SEXUAL EN EL TORO.....	12
	5. EL REFLEJO DE FLEHMEN EN LOS UNGULADOS.....	16
	6. ASPECTOS ANATOMICOS Y FISIOLÓGICOS DEL ORGANÓ VOMERONASAL.....	18
	7. ANTECEDENTES.....	24
II.	<u>O B J E T I V O S</u> .....	27
III.	<u>M A T E R I A L Y M E T O D O S</u>	
	1. UBICACION DEL LUGAR.....	28
	2. ANIMALES.....	28
	3. PROCEDIMIENTO .....	29
	4. ANALISIS ESTADISTICO .....	31
IV.	<u>R E S U L T A D O S</u> .....	32
V.	<u>D I S C U S I O N</u> .....	42
VI.	<u>L I T E R A T U R A C I T A D A</u> .....	47

### I.1 IMPORTANCIA DE LA LIBIDO EN LA REPRODUCCION.

La libido es la característica principal de la reproducción de tipo sexual en los mamíferos. Se caracteriza por una serie de eventos psíquicos y físicos que culminan en la cópula. El impulso sexual se encuentra estrechamente relacionado con la función nerviosa y hormonal y su intensidad está influenciada por factores internos tales como; la edad, raza, estado de salud, así como factores medio ambientales (36).

La libido se inicia en los animales domésticos durante el período de maduración sexual, cuando se inicia la activación del sistema hipotálamo hipofisiario. Esto va acompañado de un aumento en el nivel de hormonas gonadotróficas, lo que induce la secreción de hormonas sexuales en las gónadas, las que actúan a nivel de sistema nervioso central, induciendo cambios importantes en el comportamiento de los animales (36).

A medida que el macho se acerca a la pubertad se puede establecer una correlación entre los niveles de Testosterona (T) y un incremento en la agresividad, así como del impulso sexual (80).

Aunque el término "libido" frecuentemente es usado para explicar el instinto sexual tanto de la hembra como del macho, en realidad en los animales domésticos se emplea como sinónimo de impulso sexual masculino (26).

En el toro, la libido varía en función de la edad y de la raza. En general los toros de las razas especializadas en la producción - de carne presentan una libido inferior a la de las razas lecheras(25). En cuanto a la influencia estacional se ha observado que en las especies que limitan su época reproductiva en un período muy breve, requieren una mayor eficacia en su capacidad reproductiva durante este período. Dicha eficacia va acompañada de un impulso sexual incrementado (65).

Respecto al efecto de la temperatura ambiental sobre la libido se ha observado que en temperaturas muy elevadas ésta disminuye. Lo anterior se ha visto en los toros y en los verracos que muestran un interés escaso ó nulo por las hembras en celo, bajo estas condiciones. Contrariamente se encuentra el hecho de que en temperaturas bajas, el nivel del impulso sexual del macho se ve incrementado y en las especies de comportamiento sexual estacional esta condición ambiental determina su inicio (25,36).

Sin embargo, probablemente el factor ambiental que más efecto ejerce sobre el comportamiento de los animales de reproducción estacional es la proporción luz-obscuridad en cada ciclo de 24 hrs, y en las distintas estaciones (65).

La libido se manifiesta por medio de una amplia gama de patrones conductuales que se agrupan en el cortejo. Uno de éstos patrones común a la mayoría de los ungulados es el Reflejo Olfatorio ó Flehmen - (26).

En el macho, la conducta de apareamiento puede entenderse como el conjunto de eventos que éste realiza durante los periodos anterior, durante y posterior a la cópula (13). La libido deficiente es un problema serio entre los toros de razas lecheras y algunos productores han señalado que la masturbación puede ser una causa importante de dicho problema y/o de una mala calidad del semen de algunos toros (13). Al respecto, Houpt y Wollney (46) realizaron un estudio en toros Holstein destinados para la producción de semen, con el propósito de determinar si la masturbación se da más frecuentemente en aquellos animales con una libido pobre en comparación con los que muestran una libido adecuada; además trataron de determinar si el grado de masturbación se correlaciona con la calidad y cantidad del semen. De este trabajo se concluyó que la masturbación es una conducta aparentemente normal en los toros y no es resultado de la depravación de la actividad sexual. Además, se encontró una correlación significativa entre la frecuencia de masturbación y la concentración espermática por ml. de eyaculado, indicando que cuando la eyaculación es el resultado de la masturbación la emisión esta constituida principalmente por fluidos de las glándulas accesorias más que por células espermáticas (46).

En cuanto a la regulación hormonal de la conducta sexual en el macho, se ha observado que los niveles de T circulante no están relacionados con el nivel de la libido ó de la calidad del semen en toros. Lo anterior se fundamenta en estudios que muestran que existen niveles similares de T en toros con una libido normal y con una libido escasa (23).

Thibier ( 80 ) estudió los niveles plasmáticos de T en los toros cercanos a la pubertad y encontró un incremento significativo en dichos niveles entre los 9 y los 15 meses de edad. A los nueve meses el 33% de los toros no mostraron líbido y esto se redujo solo al 2% de los toros a los 15 meses de edad .

Hart y Colaboradores ( 34 ) reportaron una retención prolongada de la actividad sexual en machos cabríos castrados y solo observaron una disminución significativa en la frecuencia de respuestas eyaculatorias después de una semana de realizada la castración, así como una disminución en la presentación del Reflejo de Flehmen

Se han realizado diversos estudios en hembras androgenizadas para la detección del estro, tanto en ovejas como en vacas, demostrando que la androgenización involucra tanto la supresión de patrones conductuales femeninos, así como el desarrollo de patrones masculinos (15, 28, - 51, 69).

En los corderos Merino, Mattner (1976) observó un período crítico - entre las 5 y 8 semanas después del nacimiento, en que el tratamiento hormonal puede influenciar la subsecuente líbido. Los implantes de T en este período incrementan significativamente la líbido en la edad adulta. Por otro lado, cuando los corderos fueron tratados a esta edad con inmunoglobulinas anti T se observó un descenso significativo en la líbido del animal adulto. Lo anterior sugiere que durante el período postnatal temprano, los andrógenos circulantes pueden ejercer algunos efectos sobre los centros del sistema nervioso central, los cuales controlan la conducta de apareamiento en los carneros; posiblemente al modifi

car la sensibilidad de los esteroides circulantes y de esta manera se modifica también el nivel de la libido que manifiestan.

Lunstra y Colaboradores (55) realizaron un estudio con el fin de determinar los efectos del estímulo de apareamiento natural sobre la concentración sérica de LH, T y E<sub>2</sub> en toros especializados en la producción de carne, de un año de edad. En dicho estudio encontraron que los perfiles hormonales de T y LH durante los primeros 60 min. después de la exposición indicaron que el número y la amplitud de los picos se incrementó significativamente para LH y T en los toros que mostraron 3 o más respuestas de Flehmen, en comparación a los que presentaron menos de 3 respuestas de Flehmen durante la exposición a hembras en estro. Por otro lado el estímulo de apareamiento natural no tuvo efecto sobre los niveles séricos de E<sub>2</sub>.

## I.2 EL PAPEL DE LAS FEROMONAS EN LA REPRODUCCION.

Las feromonas son mensajeros químicos secretados por un animal que provocan una reacción específica en otro individuo de la misma especie. La respuesta a la acción de una feromona puede ser la inducción de un comportamiento específico o reacciones fisiológicas en el individuo receptor. El nombre de estas sustancias deriva de las raíces griegas: - Pherein - transferir y Hormon - excitar (45).

Las feromonas difieren principalmente de las hormonas en que en éstas la actividad fisiológica encuentra expresión solo en el individuo - dentro del cual se originaron (10). El sitio de producción y las características químicas de las feromonas son objeto de estudio intenso actual. En ambos sexos se encuentra una serie de glándulas apócrinas que activadas por las hormonas sexuales, sintetizan diferentes tipos de feromonas. Dentro de las estructuras anatómicas en que se localizan este tipo de glándulas en los mamíferos están el prepucio, la piel de la región perivulvar, perineal, la mucosa vaginal y el cuello uterino (4, 49, 50, 54, 64).

La propagación y comunicación de las señales feromonales de un individuo a otro, se realiza principalmente por medio de los órganos olfatorios equipados con un sistema receptor especial. Por medio de éste las señales químicas penetran por vía neural en los órganos centrales, representados principalmente por la amígdala y el hipotálamo (18).

Las feromonas con base en su mecanismo de acción, se clasifican en:

1. Feromonas inductoras de respuestas inmediatas y reversibles que operan directamente por medio del sistema nervioso central. Estas desempeñan múltiples funciones, tales como: reconocimiento. A estos mensajeros también se les conoce como: Releaser (10).
2. Feromonas inductoras de respuestas de tipo exteroceptivo que involucran a la hipófisis anterior. Las respuestas que desempeñan son lentas y requieren de una estimulación prolongada la cual inicia una cadena de respuestas fisiológicas en el individuo que las capta. Las feromonas que inducen este tipo de respuestas se denominan de tipo Primer (10).
3. Feromonas de impresión o marcaje: La estimulación en un período crítico durante el desarrollo puede resultar en una modificación permanente del comportamiento en el individuo adulto (10).

Las feromonas sexuales son secreciones endógenas que al ser liberadas en el medio ambiente por un animal, producen en el sexo opuesto de la misma especie, respuestas fisiológicas y cambios en el comportamiento sexual. Estas secreciones facilitan el reconocimiento del sexo y desencadenan los procesos que culminan con la cópula (36). Las feromonas de tipo Primer han recibido mucha atención en cuanto al estudio de la reproducción en roedores. En el ratón casero por ejemplo, el inicio de la pubertad en la hembra se adelanta por un componente químico presente en la orina del ratón macho y contrariamente se retrasa por la exposición a orina de hembras agrupadas (83).

Por otro lado, la exposición a la orina del ratón macho sincroniza el ciclo estral del ratón casero hembra, que previamente presentaba anestropor agrupamiento con otras hembras (9).

Algunos de los sistemas feromonales Primer descritos para los roedores también operan en el sistema reproductivo de los mamíferos domésticos. De manera similar a lo observado en animales de laboratorio Izard (1982) reportó que la orina del toro tiene un efecto acelerador del inicio de la pubertad en vaquillas especializadas en la producción de carne, dicho efecto lo atribuyó a la posible presencia de una feromona Primer en la orina del toro (42). En otro estudio consideró la posibilidad que el moco cérvico-vaginal de vacas en estro contenga una feromona Primer que pueda afectar la función ovárica de sus compañeras de hato, resultando en un efecto sincronizador del estro entre ellos (41).

En la hembra de los mamíferos domésticos en período de receptividad sexual hasta el momento se sabe que son fuentes importantes de feromonas el moco cérvico-vaginal y la orina. Dichos fluidos se han podido verificar que actúan atrayendo a los machos, incrementando la libido sexual (4).

En el caso particular del verraco se ha reportado que la feromona que condiciona su olor característico posee una estructura esteroide. El componente principal es el 5 androsteno, 16, 3 ona. Dos precursores de este se forman en el testículo y se biotransforman en el 5 androsteno, el cual se sintetiza durante el período de preparación precopulatoria en la espuma salival. Tanto la estimulación sexual como la aplicación de HCG provocan en

el verraco un aumento en el nivel circulante de Testosterona y de la cantidad almacenada de  $5\alpha$ -androst, 16 en  $3\alpha$ -ol y  $3\beta$ -ol, que son los principales componentes de las feromonas. Las glándulas salivales pueden sintetizar la feromona a partir de esteroides no androgénicos de origen testicular o de otros precursores androgénicos. Una vez sintetizado este compuesto es almacenado en el tejido adiposo y en las glándulas salivales del cerdo y es eliminada por la saliva, principalmente durante la excitación sexual. Los receptores de la mucosa nasal de la cerda captan la substancia y provocan una modificación en la actividad del bulbo olfatorio, ésta modificación induce el reflejo de inmovilización de la cerda en celo (14, 75, 82).

Por otro lado, se ha observado que el carnero tiene la capacidad de discriminar entre el olor de la oveja en estro y de las que no se encuentran receptivas (5, 39). Cuando se han destruido los lóbulos olfatorios de éstos animales se ha comprobado que son incapaces de distinguir entre una oveja en estro y otra en no estro (4, 61). Así las feromonas sexuales de los mamíferos son sintetizadas por ambos sexos y desempeñan un papel importante en el reconocimiento inicial del patrón sexual y en la integración de la conducta entre ambos sexos. De esta manera las feromonas de origen masculino desempeñan la función de afrodisíacos para la hembra mientras que las de origen femenino son estimuladoras de la libido en el macho e inductoras de una sincronización del estado sexual de las demás hembras.

### I.3 IMPORTANCIA DE LA OLFACION EN LA FISIOLOGIA REPRODUCTIVA.

El sentido del olfato deriva de un complejo de quimiorreceptores nasales, nervios craneales, núcleo sensorial primario y de otros componentes del sistema nervioso central. El sistema olfatorio primario está compuesto de quimiorreceptores existentes en la mucosa olfatoria, un nervio craneal y el bulbo olfatorio principal y sus conexiones centrales. El sistema vomeronasal está compuesto de receptores localizados en el órgano vomeronasal (OVN) y se proyecta vía el nervio vomeronasal a los bulbos olfatorios accesorios en el sistema nervioso central. Las proyecciones centrales de los bulbos olfatorios accesorios aparentemente no cruzan las proyecciones de los bulbos olfatorios principales. El nervio trigémino contribuye a la sensación olfativa también (60).

Por lo tanto el sistema olfatorio primario y el sistema vomeronasal son anatómicamente distintos tanto central como periféricamente. La conducta reproductiva se da principalmente en respuesta a una estimulación teniendo su origen ésta en el medio ambiente en el que se desarrolla el individuo. Dicha estimulación se da a nivel de los órganos de los sentidos (visual, auditivo, olfativo y táctil). De manera específica la olfacción es fundamental en la estimulación de las respuestas reproductivas en muchas especies de ungulados (25, 52). Las feromonas inducen de manera importante los procesos reproductivos de los mamíferos; éstas incrementan la atracción sexual y la conducta copulatoria al ser identificadas por otro individuo de la misma especie (17, 57).

Al interrumpir el funcionamiento del sistema vomeronasal del ratón hembra se ha observado que se producen serias alteraciones en la fisiología reproductiva y al realizar la misma intervención en el macho se suprimen las respuestas endócrinas a las señales olorosas de las hembras (72, 83, 88). Por otro lado se ha demostrado que la lesión combinada del órgano vomeronasal y el sistema olfatorio elimina en un 100% la copulación en el hamster macho (7).

De igual manera Powers y Winans observaron que el nervio vomeronasal ha de ser seccionado para que la conducta de apareamiento del hamster macho pueda ser bloqueada por medio del tratamiento de la mucosa olfatoria con sulfato de zinc. La demostración de que el sulfato de zinc aparentemente no afecta los receptores vomeronasales en el ratón sugiere que la conducta sexual de los ratones tratados con este compuesto pudo haber sido mantenida por el sistema vomeronasal (8).

En la cabra se han demostrado efectos endócrinos mediados por la vía olfatoria. La introducción de un macho adulto induce un incremento brusco en la secreción de LH de ovejas anéstricas previamente aisladas. Este incremento en la secreción de LH finalmente inducirá la ovulación y la conducta de estro, si el estímulo se mantiene durante un tiempo - adecuado (67, 89). Este efecto del macho sobre la cabra, es muy similar al observado en roedores, debido a sus bases quimiosensoriales. Lo anterior aunado al hecho que el órgano vomeronasal es funcional en los - ungulados, ha orientado a algunos investigadores a sugerir que la respuesta de LH en la oveja puede estar mediada por el sistema olfatorio accesorio.

#### I.4 PATRON DE CONDUCTA SEXUAL EN EL TORO.

La etología es la ciencia que estudia el comportamiento de los animales en condiciones naturales ó modificadas. El comportamiento de un animal es atribuido a la interacción de factores genéticos y medio ambientales. El comportamiento sexual es instintivo en los animales domésticos, pero un ambiente modificado puede alterar o suprimir a éste (2, -24, 29, 32).

La conducta de apareamiento puede entenderse como el patrón sexual que presenta el animal macho durante los períodos anterior, durante y posterior al servicio. Aunque el toro emplea tanto el sentido de la vista como del olfato en la identificación de las hembras en estro, el estímulo visual parece tener gran importancia en el inicio de la conducta de apareamiento (13).

El tamaño del grupo de hembras cíclicas no gestantes, está relacionado con el interés que muestra el toro para checar a las hembras receptivas. Si alguna de las hembras se encuentra en etapa de proestro tardío ó estro, el toro investiga de manera regular el estado de la mayoría de las hembras del hato. Dicha indagación la realiza por medio de olfateos y lamidos a nivel de la región perineal y posterior de la vaca (68).

Trabajos recientes han mostrado que el toro usa la lengua para transferir fluídos (probablemente orina) a una porción saliente de un incisivo corto, que se localiza sobre el cojinete dental, Posteriores movimientos de lengua comprimen el paladar dorsal y este forma un vacío que transfiera el fluído a el OVN (43).

Se ha descrito que cuando las hembras del hato se encuentran en proestro tardío o en estro se agrupan formando lo que se conoce como grupo activo sexual. Esta agrupación se caracteriza porque es extremadamente móvil y presenta cambios en los miembros que la componen de manera frecuente. Se ha reportado que las vaquillas en estro pasan el 97% de su tiempo en un grupo activo sexual, generalmente este grupo permanece en contacto visual con el toro o grupo de toros (13).

El toro generalmente es atraído hacia dicho grupo, por el cuadro de actividad de montas que se da dentro del grupo de hembras próximas a entrar en estro (20, 31, 33 y 73). Una vez que detecta a una hembra particular, el toro prueba su receptividad por medio intentos de monta, apoyando la barba en la grupa de la hembra, por olfateos y lamidos de la región perineal, reflejo de Flehmen, así como topeteos (63). Al ocurrir esto, una hembra no receptiva generalmente toma una respuesta de huida. El estímulo más importante que motiva al toro a montar e intentar servir a la vaca en estro, es cuando ésta permanece inmóvil (6, 12, 20 y 71).

Diversos autores han descrito la conducta sexual en los bovinos, pero sin establecer una diferencia marcada entre el conjunto de eventos que componen el patrón conductual.

Olivera y colaboradores (1962) realizaron un estudio en condiciones del subtrópico en la Península de Yucatán, con el propósito de describir el patrón de conducta sexual que presenta el ganado cebú; basándose en las marcas que deja el arnés (Chin ball) que se coloca a los toros, cuando interaccionan con las hembras durante el período de estro.

En dicho trabajo observaron que la primera marca que deja el toro en la hembra durante las primeras 4 hrs. de iniciado el estro es nivel de la región de la nuca, esto es un 80% de los casos, y el 20% restante en los cuernos. A este tipo de conducta le denominaron Caressing. A las cuatro horas siguientes se presentó una marca en la región costal y/o miembros posteriores, dicho patrón corresponde al evento de Nudging. A las ocho horas de iniciado el estro se observó un marcaje en la región del maslo de la cola y en la región glútea, que se considera también como un evento tipo Nudging. Es durante esta etapa que se observó que se establece el reflejo de Flehmen, sin embargo éste también puede estar presente en las siguientes horas de la interacción macho-hembra durante el estro.

A las doce horas se presentaron dos sitios de marcaje, uno a nivel lombo-sacro que es el sitio en donde se apoya la barba del macho (Chinresting), y otro en la región lumbar, el cual se produce cuando el macho realiza una monta fallida.

Fue hasta las 16 horas de iniciado el estro que se observó una marca exclusivamente a nivel lumbar, la cual en condiciones normales correspondería a la copulación, debido a que es en éste momento en que la hem-

bra se deja montar plenamente por el macho. A este evento también se les llama Reflejo de Inmovilización .

García y colaboradores ( 30.) realizaron un trabajo con el propósito de evaluar el efecto de una vaca estímulo sobre la conducta sexual de toros raza Santa Gertrudis (cruza Bos taurus-Bos indicus). Para este fin -- compararon la respuesta de los toros a vacas en etapa de estro y diestro, observando una marcada diferencia en el patrón sexual de respuesta a dichas vacas.

Entre las vacas periestrales y preovulatorias se incrementó de manera importante la frecuencia de respuestas copulatorias, lo que no se observó en las vacas que ya habían ovulado. Lo anterior se relaciona con lo observado en toros semisalvajes y toros mantenidos en pastoreo libre, los cuales cuando detectan a una vaca próxima a entrar en celo la siguen por varios días. Se ha sugerido que probablemente sea un mensaje químico ó una postura especial lo que atraiga al toro durante éste periodo. Se piensa que tanto el contacto oronasal y las respuestas de Flehmen facilitan el acceso al OVN y al sistema olfatorio a las secreciones corporales que conllevan información respecto al estado reproductivo de la hembra..

#### I.5 EL REFLEJO DEL FLEHMEN EN LOS UNGULADOS.

El Reflejo de Flehmen (RF) es un comportamiento que ha sido observado en muchas especies de mamíferos, incluyendo a la mayoría de los ungulados. Este término fue introducido por Schneider en 1930 para describir un acto estereotípico desarrollado principalmente por los machos - de la mayoría de los ungulados (21, 25, 58, 74).

Estes (21) describió la forma típica del RF en donde el animal - se encuentra parado, con la cabeza levantada y rígida, el labio superior encurvado al mismo tiempo que frunce la nariz, descubre la encía y mantiene el ocico ligeramente abierto mientras se da. Este comportamiento ocurre mientras el macho interacciona con una hembra en estro, después de efectuar movimientos de lamido rápidos en la región perivulvar y generalmente es seguido de la monta. (Figura 1A y B)

En el macho cabrío se ha observado que el RF generalmente se da de manera repetida y puede prolongarse en ocasiones por arriba de un minuto (68, 70).

Fraser consideró al Flehmen como un patrón motor asociado con la olfación de ciertas sustancias olorosas, especialmente la orina. A dicho patrón lo denominó Reflejo Olfatorio (25).

La función principal del RF probablemente es el análisis de diferentes excreciones de las hembras (orina, moco cervical, sudor) por medio - de la estimulación el sistema olfatorio principal y accesorio con el pro

pósito de conocer el estado reproductivo de la hembra, sin embargo aún se desconocen muchos aspectos relacionados con esta conducta. En los bovinos salvajes, el macho dominante generalmente examina la orina de cada hembra del hato, esto lo hace al momento en que la hembra se coloca en posición para orinar (71).

El interés de Estes por estudiar al Organo Vomeronasal (sistema olfatorio accesorio) derivó de sus estudios realizados en el antílope africano. A partir de éstos estudios quedó convencido que el análisis de la orina por parte del macho en la conducta precoital, es de fundamental - importancia para determinar el estado reproductivo de la hembra (21).

Knappe (citado por Estes, 21 ) observó que todos los animales que se sabe presentan RF, cuentan con un órgano vomeronasal y un bulbo olfatorio accesorio bien desarrollado y desde entonces ya consideraba que con base en los estudios anatómicos, histológicos y etológicos realizados hasta esa fecha, existía una relación directa entre la función del órgano vomeronasal y el RF.

#### I.6 ASPECTOS ANATOMICOS Y FISIOLOGICOS DEL ORGANO VOMERONASAL.

El órgano vomeronasal (OVN) u órgano de Jacobson, se encuentra localizada sobre cada lado de la base del septum nasal y esta en estrecha relación con la región olfatoria. Esta estructura anatómica esta presente de manera generalizada en los vertebrados terrestres, siendo más desarrollado en los réptiles terrestres. En el hombre presenta su máximo desarrollo durante la vida fetal y solo quedan vestigios en el adulto. En las especies domésticas incluyendo a los equinos, bovinos, ovinos caprinos, porcinos, caninos y felinos, se mantiene como un órgano aparentemente funcional en el adulto (21).

De acuerdo a Read (1908) el OVN está íntimamente asociado con el sentido del olfato, sin embargo Negus (1958), consideró que su función más común es la determinación de los sabores del alimento.

El OVN en el ovino consta de dos tubos epiteliales con sus glándulas asociadas, nervios y aporte vascular. Dichos tubos descansan sobre cada lado de la base del septum nasal en la mitad rostral de la cavidad nasal. Cada uno de éstos tubos se encuentra casi en su totalidad rodeado por un cartílago vomeronasal el cual es incompleto en la porción dorso lateral. Cada tubo se origina del conducto nasopalatino y el extremo caudal ciego del tubo se extiende transversalmente a través del segundo diente del carrillo. La comunicación que existe entre los tubos y la cavidad oral es por medio del ducto nasopalatino, pero el sitio estrecho por el que entra el OVN al ducto nasopalatino parece impedir cualquier comunicación con la cavidad nasal (53). (Figs. 2, 3 y 4).

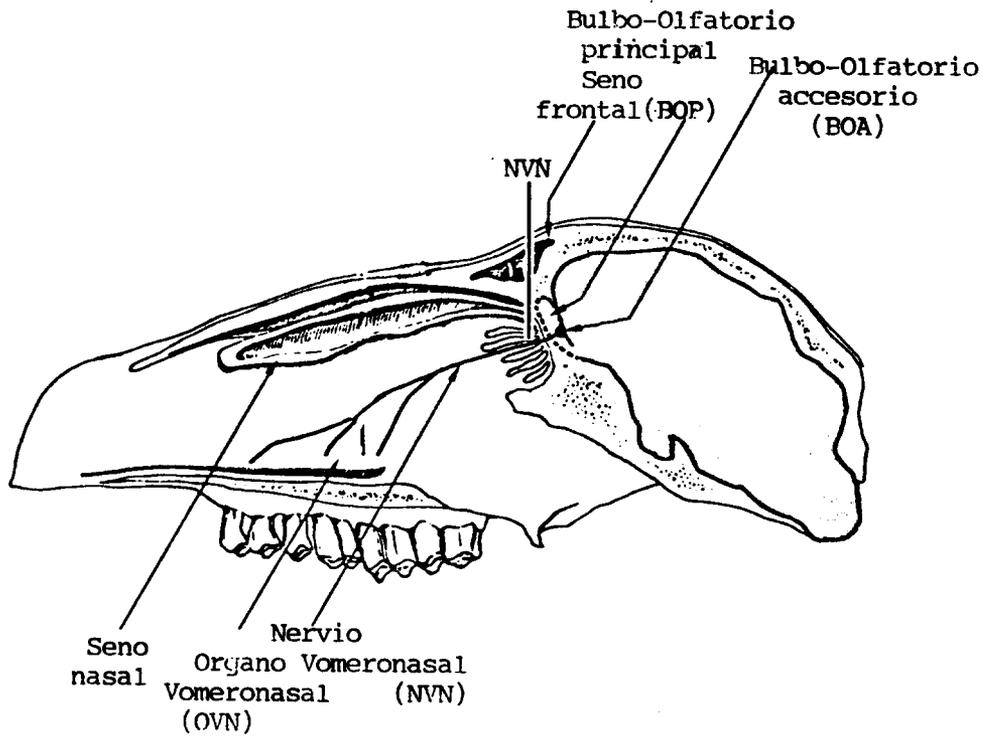


Fig. 2. REPRESENTACION ESQUEMATICA DE UN CORTE PARASAGITAL DE LA CAVIDAD NASAL DEL CARNERO. RELACION ANATOMICA ENTRE EL ORGANO VOMERONASAL Y LOS BULBOS OLFATORIOS. (Adaptado de: Cohen-Tannaudji y Col. J. Reprod. Fert. 86. 1989).

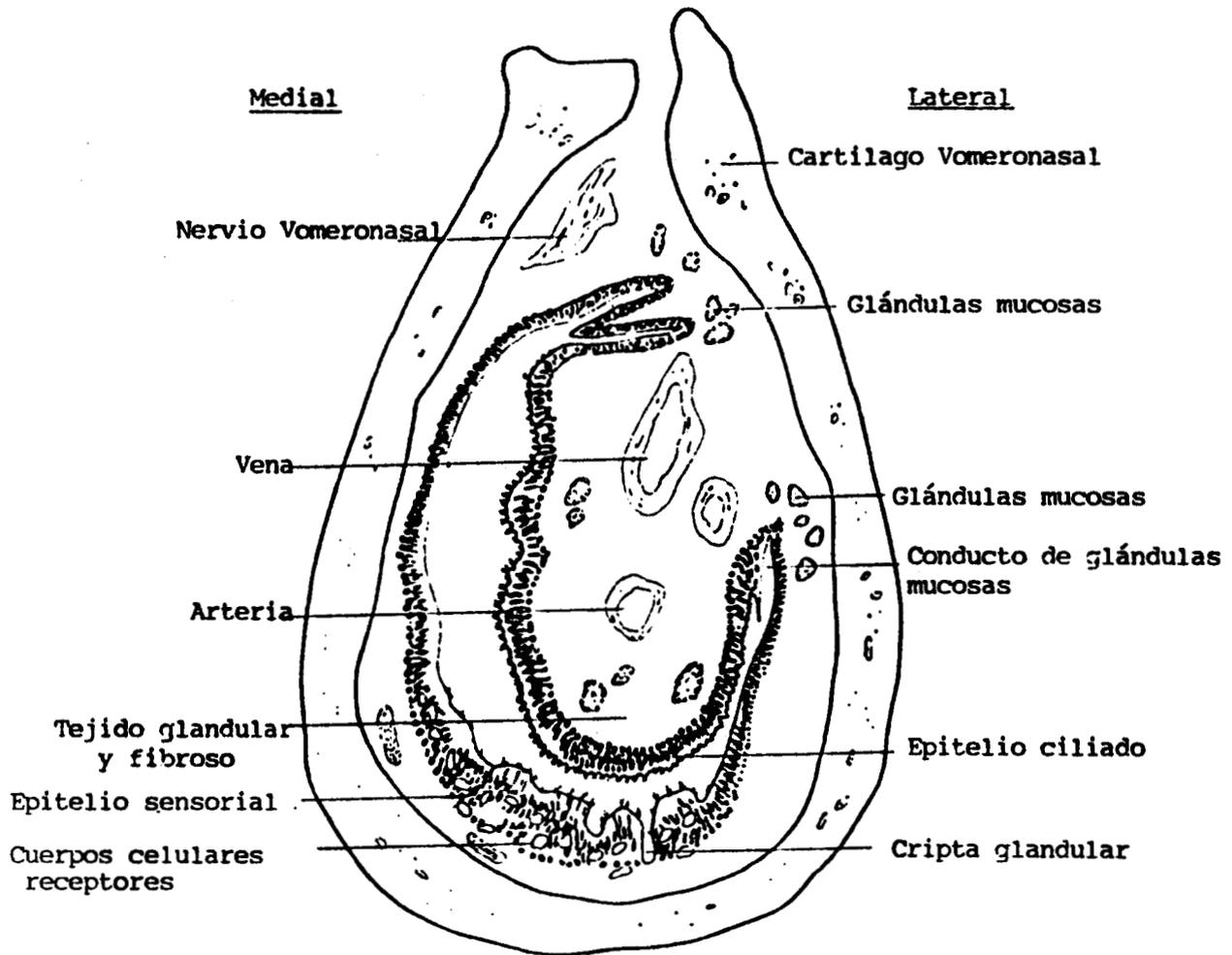


Fig. 3. CORTE TRANSVERSAL DIAGRAMATICO DE UN TUBO DEL ORGANNO VOMERONASAL DE CARNERO, PARA MOSTRAR LA ORIENTACION DE LAS AREAS EPITELIALES CILIADA Y SENSORIAL. ( Adaptado de: Kratzing, J. J. Anat. 108. 1971 ).



Fig. 4. DIAGRAMA DE LAS CELULAS DEL EPITELIO SENSORIAL DEL ORGANNO VOMERONASAL. El proceso distal de la célula receptor(R) se extiende entre las células de sosten(S) para expandirse bajo la superficie de una región que contiene numerosas mitocondrias(M), un grupo de centriolos(ct), y un cuerpo granular obscuro(GB). Este tiene encima muchas microvellosidades(mv) y un solo microproceso(mp) con un fondo vesicular. Alrededor del núcleo (N) existe una región Golgi (Gol) y un retículo endoplásmico rugoso extensivo (rer). Las células-basales (B) rodean los procesos proximales (pp) de las células receptor hasta que atraviesan la lámina basal (BL) para llegar a los axones del nervio vomeronasal (Nf). (Adaptado de: Kratzing, J. J. Anat. 108. 1971).

A partir de que Jacobson (86) describió el OVN de los mamíferos, ha existido mucha discrepancia en cuanto a su papel en la fisiología reproductiva.

Kaneko y Colaboradores (44) reportaron que el adelantamiento de la pubertad en el ratón hembra joven, es dependiente de la integridad del sistema olfatorio accesorio. Esto se concluyó al comparar el peso del útero de un grupo de ratones hembra de 23 a 25 días de edad, a las cuales se les seccionó ambos nervios vomeronasal dentro del cráneo y posteriormente se alojaron junto con machos durante un período de 48 hrs.

De lo anterior se puede concluir que otras respuestas de tipo feromonal, como los efectos de Bruce y el efecto de Whitten de igual manera son mediados por el OVN.

El macho hamster presenta una particularidad ya que su actividad sexual se rige bajo un sistema matriarcal y solo puede presentar actividad sexual, después que ha recibido una señal química de una hembra en estro.

Singer y Colaboradores (76, 78) reportaron que el compuesto dimetilsulfido, que se aisló en las secreciones vaginales de las hembras en estro induce una conducta sexual intensa en el macho. Recientemente se demostró que una substancia de peso molecular alto, probablemente una proteína de la misma secreción vaginal actúa como un afrodisiaco verdadero en el hamster macho, siempre y cuando el sistema olfatorio accesorio esté intacto.

De manera que el compuesto volátil Dimetilsulfido induce en el macho una búsqueda de la hembra receptiva, mientras que la proteína de alto peso molecular inicia la respuesta copulatoria, por lo que estas dos sustancias provenientes de la hembra en estro, actúan de manera coordinada. (56, 57, y 77).

Meredith (citado por Whitten, 1985) demostró que ocurre un cambio b*í*fásico en el volúmen del lúmen del OVN posterior a la estimulación del nervio nasopalatino. Esto depende de las fibras adrenérgicas que inervan al seno vascular eréctil y de la presencia de fibras elásticas en el tejido conjuntivo del OVN (86).

De esta manera Meredith aportó una evidencia clara de la existencia de un sistema de bombeo el cual extrae fluídos hacia el OVN del depósito que rodea su orificio y también expulsa fluídos del órgano. Por lo que se sugiere que al menos en el hamster, el Dimetilsulfido estimula al epitelio olfatorio del macho y en consecuencia incrementa la respuesta de búsqueda. Muy relacionado a esto puede estar la activación del mecanismo de bombeo del OVN. Cuando el macho se pone en contacto con la proteína no volátil de la secreción vaginal, ésta es en cierto modo transferida a la cavidad nasal y se conduce hacia el lúmen del OVN el cual transmite impulsos para un centro, probablemente en el hipocampo el cual controla el comportamiento sexual. Se sabe aún menos en cuanto lo que ocurre en el ratón hembra. Whitten sugiere que los compuestos volátiles de la orina del macho inician la respuesta de búsqueda y la activación del bombeo vomeronasal (86).

### I.7 ANTECEDENTES.

Debido a que el reflejo de Flehmen en los mamíferos machos es generalmente observado en un contexto sexual, su papel en la reproducción se ha considerado de importancia.

La mayoría de las teorías acerca de la función de Flehmen están relacionadas con el OVN y a la detección de feromonas (21).

Los estudios basados en observaciones conductuales han revelado que el Flehmen presentado por el macho generalmente se da en respuesta a la investigación olfativa de la orina; sin embargo esto también se ha observado en ausencia de micción (4).

Paleologou y colaboradores ( 64 ) observaron que al dar a oler frente a toros guantes de plástico conteniendo una cantidad pequeña de materia fecal y de secreción cérvico-vaginal, todos mostraron un gran interés, olfateando los guantes con la nariz levantada como cuando olfatean la región perineal de una vaca en estro. Asimismo realizó pruebas exclusivamente con moco cérvico-vaginal observando la misma respuesta. Posteriormente frotó sobre un maniquí secreción cérvico-vaginal de vacas en estro e introdujo un toro al sitio donde estaba el maniquí, observando que éste lo olfateaba e intentaba montarlo por la región posterior.

Algo sumamente interesante es el hecho que al dar a oler y frotar sobre un maniquí moco cérvico-vaginal procedente de vacas en etapa de metaestro y diestro, los toros no mostraron interés y no se observaron efectos

conductuales. Paleologou consideró que el olor del moco cérvico vaginal de vacas en estro atrae y excita a los machos y que ésta prueba pudiera ser de utilidad para la identificación de vacas próximas a la inseminación artificial .

Kiddy y colaboradores ( 47 ) realizaron un estudio utilizando perros entrenados con el propósito de determinar si existe un olor especial al momento del estro en las secreciones vaginales y orina de las vacas, que los perros pudieran detectar. Los resultados de estos experimentos indicaron que existe un olor específico asociado con el estro en vacas y que los perros entrenados son capaces de detectarlo .

Con base en los resultados anteriores, se realizó un estudio nuevamente utilizando perros entrenados en la detección de olores asociados al estro en vacas, con el propósito de determinar el tiempo de aparición de los olores asociados al estro durante el proestro y cuanto tiempo se mantienen presentes después de terminado el período de estro. En dicho trabajo se encontró que los olores se manifiestan ligeramente a partir de los 3 días anteriores al estro, registrando un pico definitivo en intensidad en el día del estro y desapareciendo dentro de las 24 hrs. siguientes (49). Asimismo se realizó un estudio en vacas utilizando perros entrenados con el fin de determinar si los perros son capaces de detectar olores asociados al estro en muestras de leche obtenidas el día del estro, obteniendo un 76% de respuestas positivas a dichas muestras, lo que hace pensar que también en la leche pudiera existir un olor peculiar durante el estro (48, 50). Estos resultados indican que los olores asociados al estro son diseminados por medio de los flúidos corporales de la vaca (50).

Hradecky ( 38 ) expuso a un toro con pene desviado con vacas cíclicas en un corral diariamente durante 9 meses. Dicho toro mostró claramente - una mayor frecuencia de respuestas de Flehmen repetidas a las vacas que se encontraban en estro en comparación a los demás días del ciclo, sugiriendo que las posibles feromonas estrales, solo se liberan durante un período - restringido o que se liberan en cantidades tan pequeñas durante la fase lútea, que no son capaces de desencadenar el reflejo de Flehmen .

Finalmente French y colaboradores ( 27 ) realizaron un estudio con el propósito de identificar los signos de estro y proestro dentro de un hato lechero y conocer la interacción social que se da entre vacas y toros, observando que los toros iniciaron un mayor número de interacciones con las vacas que estaban en proestro. El interés de los toros por las vacas en - proestro se inició aproximadamente 4 días antes del estro y se caracterizó por un incremento en la conducta olfativa y gustativa, sugiriendo que los toros pueden predecir el inicio del estro por varios días, al detectar las señales olfativas liberadas por las vacas en proestro .

II. Con base en los antecedentes mencionados, los objetivos del presente trabajo fueron:

II.1 Conocer el patrón de respuesta del Reflejo de Flehmen (duración y frecuencia / 2 min) a muestras de moco cervico-vaginal obtenidas el día "0" del ciclo estral.

II.2 Conocer el patrón de respuesta del Reflejo de Flehmen (duración y frecuencia / 2 min) a improntas cervico-vaginales obtenidas los días 3, 6, 9, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21 post-estro y determinar si existen diferencias entre éstos días.

II.3 Conocer el patrón de respuesta del Reflejo de Flehmen a muestras de leche obtenidas los días "0", 3, 6, 9, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21 post-estro y determinar si existen diferencias entre éstos días.

#### HIPOTESIS DE TRABAJO.

Los fluidos corporales estudiados (moco, impronta cervico-vaginal y leche) son un vehículo y/o contienen sustancias olorosas (feromonas) asociadas al estro, por lo que su capacidad para inducir el Reflejo de Flehmen en el toro, varía a lo largo del ciclo estral de la vaca.

### III. MATERIAL Y METODOS.

#### 3.1 UBICACION DEL LUGAR

La parte experimental del presente trabajo se realizó en la explotación lechera denominada "Guadalupe, localizada en el municipio de "El Marqués", Estado de Querétaro, el cual se encuentra ubicado en el centro del país, entre los 20° 01' 16'' y 21° 35' 38'' de latitud norte y los 99° 00' 46'' y 100° 35' 46'' de la longitud oeste del Meridiano de Greenwich.

El clima de esta región, según la clasificación de Köppen, modificada por García, corresponde al subtipo Semiseco Templado ( $BS_1KW(W)$ ), con una temperatura media anual que varía de los 18° a 19° C. La media mensual máxima se presenta en mayo con 22°C y la mínima, en enero con 14.9°C. La precipitación total anual fluctúa entre 450 y 630 mm. Este fenómeno se presenta en julio, cuando alcanza 123 mm y disminuye en febrero, en el cual no rebasa los 5 mm (40).

#### 3.2 ANIMALES.

Se utilizaron vacas de la raza Holstein en producción de segundo a tercer parto y ciclando, mantenidas bajo las mismas condiciones de manejo que el resto del hato, en un sistema de explotación tipo intensivo. La alimentación de las vacas fue a base de forraje verde picado (alfalfa, avena y rye grass), ensilado de maíz y concentrado en cantidad necesaria para satisfacer las demandas nutricionales de las mismas.

Para la evaluación de los fluidos en estudio se utilizaron 5 toros raza Holstein de 18 a 24 meses de edad, mantenidos bajo las condiciones de manejo del resto del hato.

La producción promedio del hato durante el desarrollo del trabajo fue de 18 kg por día, en dos ordeñas diarias.

La parte experimental del presente trabajo se realizó durante los meses de julio, agosto, septiembre y octubre de 1989.

### 3.3 PROCEDIMIENTO

Los fluidos evaluados se obtuvieron durante el segundo "celo" post-parto (46-90 días post-parto) de las vacas utilizadas. Con ayuda de las tarjetas de registro de los animales se identificaron aquellas vacas próximas a entrar en celo, posteriormente se efectuó la observación diaria de la conducta sexual en los corrales, durante períodos de 20 minutos cada 4 horas. Se trabajó con la totalidad de vacas de la explotación, que presentaron su segundo celo post-parto durante el período de realización del presente trabajo.

El día del estro se consideró como el día "0" del ciclo estral, ese día se tomó una muestra de 10 ml de moco cervical en frascos viales estériles (previamente identificados), efectuando al mismo tiempo la palpación rectal de los órganos sexuales internos para verificar su desarrollo normal, a las mismas vacas muestreadas el día "0" se les tomó muestra de impronta cérvico-vaginal (la cual es una combinación de orina y secreción de la mucosa cérvico-vaginal) el día - 3, 6, 9, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21 post-estro, por medio de la

introducción de la mano enguantada a la región cervico-vaginal, efectuando un masaje suave. Cabe mencionar que para cada muestreo se utilizó un guante - plástico diferente. El muestreo se realizó al momento de la ordeña rutinaria (entre 5 y 7 a.m.). Una vez obtenidas las muestras fueron mantenidas bajo - temperatura de refrigeración durante un tiempo máximo de 2 horas. Antes de iniciar cada experimento nuestro control consistió en dar a oler al toro un guante desechable empapado con agua destilada durante un tiempo de exposición de 2 minutos. Posteriormente la muestra fue presentada para ser olfateada por el mismo toro, durante el mismo tiempo de exposición del control y a un distancia de 5 cm. de los ollares. Previamente al inicio de cada experimento se utilizó una bata libre de aromas provenientes de otros animales, con el fin de no interferir con los resultados. En cada evaluación se registró con un cronómetro la duración y la frecuencia con que se daba el RF en los dos minutos de exposición a la muestra. Los dos minutos que duraba el experimento, se controlaron utilizando un reloj de laboratorio con alarma. Una vez que se daba un RF inmediatamente después de terminar éste se volvía a presentar la muestra en - evaluación para observar si se repetía el reflejo, lo cual si era el caso, se registraba con otro cronómetro. Dado que se ha reportado por Sambraus, 1969 - (citado por Hradecky-1983) que existe una diferencia de respuesta del RF entre individuos, en cuanto al número de veces que las secreciones de vacas en estro pueden desencadenar a éste y debido a que el objetivo del presente estudio fué determinar su ocurrencia y su duración, se consideró adecuado registrar las respuestas dadas en una unidad de tiempo de dos minutos y cuando dentro de éste período un animal presentaba más de una respuesta positiva , con el fin de homogeneizar los valores, se procedió a registrar en las hojas de trabajo el promedio de los mismos.

3.4 ANALISIS ESTADISTICO.

096921

La longitud del ciclo estral de las vacas utilizadas se analizó mediante las medidas de tendencia central y de dispersión. El patrón de respuesta del RF se cuantificó por medio de medidas de tendencia central y de dispersión y se determinó la existencia de diferencia estadística entre cada uno de los días observados (0, 3, 6, 9, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21) del ciclo estral, por medio de un análisis de varianza y su consecuente diferencia media significativa honesta (D.M.S.H.) ( $P < 0.05$ ). Este análisis se practicó tanto entre los grupos de moco e impronta cérvico-vaginal, así como en la leche.

Se determinó la sensibilidad, especificidad y valor predictivo de las pruebas realizadas tanto para el moco e impronta cervico-vaginal como para leche, para verificar su posible importancia aplicativa en el diagnóstico temprano del estro (79, 85). Los resultados obtenidos se presentan por medio de cuadros y figuras.

#### IV. RESULTADOS.

##### 4.1 PATRON DE RESPUESTA DEL REFLEJO DE FLEHMEN ( RF ) A MUESTRAS DE MOCO CERVICO-VAGINAL EN EL DIA "0" DEL CICLO ESTRAL.

Los valores promedio obtenidos para el día "0" en cuanto a la duración (seg) y frecuencia/ 2 min. con que se dio el RF en respuesta a las pruebas realizadas con MOCO CERVICO-VAGINAL fueron:  $7.06 \pm 2.08$  y  $2.06 \pm 0.54$  respectivamente. (Cuadro 1) (Figs. 5 y 6).

##### 4.2 PATRON DE RESPUESTA DEL RF A IMPRONTAS CERVICO-VAGINALES.

Los valores promedio obtenidos respecto a la duración (seg) que presentó el RF para los días 3, 6, 9, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, y 21 post-estro fueron:  $3.24 \pm 3.90$ ;  $3.23 \pm 4.75$ ;  $3.12 \pm 3.42$ ;  $4.30 \pm 6.52$ ;  $2.84 \pm 4.05$ ;  $5.61 \pm 2.72$ ;  $6.45 \pm 3.45$ ;  $6.41 \pm 3.0$ ;  $5.81 \pm 2.94$ ;  $7.15 \pm 2.48$  y  $6.23 \pm 2.16$  respectivamente. En relación a la frecuencia/ 2 min. con que se dio el RF durante los días anteriores y en respuesta a las mismas muestras los resultados fueron:  $0.66 \pm 0.94$ ;  $0.33 \pm 0.47$ ;  $0.66 \pm 0.66$ ;  $0.44 \pm 0.68$ ;  $0.33 \pm 0.47$ ;  $1.38 \pm 0.86$ ;  $1.42 \pm 0.84$ ;  $1.45 \pm 0.79$ ;  $1.54 \pm 0.87$ ;  $1.58 \pm 0.64$  y  $1.48 \pm 0.77$  respectivamente. (Cuadro 1) (Figs. 5 y 6).

##### 4.3 PATRON DE RESPUESTA DEL RF A MUESTRAS DE LECHE.

Para la leche los valores promedio obtenidos respecto a la duración (seg) del RF para los días 0, 3, 6, 9, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21 post-estro fueron:  $6.41 \pm 2.0$ ;  $1.18 \pm 2.34$ ;  $1.85 \pm 3.64$ ;  $1.74 \pm 2.60$ ;  $0.99 \pm 1.86$ ;  $1.29 \pm 1.86$ ;  $4.32 \pm 3.29$ ;  $4.74 \pm 3.68$ ;  $5.59 \pm 3.59$ ;  $5.33 \pm 3.79$ ;

5.14 $\pm$  3.41 y 5.73 $\pm$  3.40 respectivamente. En cuanto a la frecuencia / 2 min. con que se dio el RF durante los días anteriores y en respuesta a las mismas muestras, los valores fueron: 1.29 $\pm$  0.56; 0.33 $\pm$  0.66; 0.22 $\pm$  0.41; 0.33 $\pm$  0.47; 0.22 $\pm$  0.41; 0.33 $\pm$  0.47; 0.91 $\pm$  0.74; 1.0 $\pm$  0.81; 1.0 $\pm$  0.70; 0.88 $\pm$  0.67 1.06 $\pm$  0.91 y 1.03 $\pm$  0.79 respectivamente. (Cuadro 2) (Figs. 7 y 8).

Se encontró diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) entre los valores promedio obtenidos respecto a la duración y frecuencia con que se dio el RF durante los días del ciclo estral evaluados con muestras de moco e impronta cervico-vaginal. De igual manera hubo diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) entre los valores promedio obtenidos para las muestras de leche, durante los diferentes días del ciclo estral. Por medio de un análisis de Diferencia Media Significativa Honesta (DMSH) se determinó que grupos resultaron ser diferentes entre sí, encontrándose que con respecto al moco e impronta cervico-vaginal el valor promedio del día 15 mostró diferencia con los valores promedio de los días "0", 17, 18 y 20 del ciclo estral; el valor promedio del día 9 mostró diferencia con los valores promedio de los días "0", 17, 18, 20 y 21; el valor promedio del día 6 mostró diferencia con los promedios de los días "0", 17, 18, 20 y 21; el valor promedio del día 3 mostró diferencia con los valores promedio de los días "0", 17, 18, 20 y 21; el valor promedio del día 12 mostró diferencia con el valor promedio del día 11; el valor promedio del día 16 mostró diferencia con los promedios de los días 3, 6, 9, 12 y 15; el valor promedio del día 19 mostró diferencia con los promedios de los días 3, 6, 9, 12, 15 y 16; el valor promedio del día 21 mostró diferencia con los promedios del día 3, 6, 9, 12, 15, 16 y 19; el valor promedio del día 18 mostró diferencia con los promedios de los días 3, 6, 9, 12, 15, 16, 19 y 21; el promedio-

del día 17 mostró diferencia con los promedios de los días 3, 6, 9, 12, 15, 16, 17, 18, 19 y 21 y el valor promedio del día "0" mostró diferencia con los valores promedio de los días 3, 6, 9, 12, 15, 16, 17, 18, 19 y 21.

Respecto a las muestras de leche evaluadas, el valor promedio del día 12- mostró diferencia con los valores promedio de los días "0", 16, 17, 18, 19, 20 y 21 del ciclo estral ; el valor promedio del día 3 mostró diferencia- con los valores promedio de los días "0", 16, 17, 18, 19, 20 y 21 ; el valor promedio del día 15 mostró diferencia con los valores promedio de los días "0", 18, 19, 20 y 21 ; el valor promedio del día 9 mostró diferencia con - los valores promedio de los días "0", 17, 18, 19, 20 y 21 ; el valor pro-- medio del día 6 mostró diferencia con los valores promedio de los días "0", - 18, 19, 20 y 21 ; el valor promedio del día 16 mostró diferencia con los - valores promedio de los días "0", 3, 6, 9, 12 y 15 ; el valor promedio del día 17 mostró diferencia con los valores de los días 3, 6, 9, 12, 15, 16 y 17 ; el promedio del día 20 mostró diferencia con los valores promedio de los días 3, 6, 9, 12, 15, 16 y 17 ; el valor promedio del día 19 mostró di- ferencia con los valores de los días 3, 6, 9, 12, 15, 16, 17 y 20 ; el va-- lor promedio del día 18 mostró diferencia con los valores promedio de los días 3, 6, 9, 12, 15, 16, 17, 19 y 20 y el valor promedio del día 21 mos-- tró diferencia con los valores promedio de los días 3, 6, 9, 12, 15, 16, - 17, 18, 19 y 20.

Por último a las pruebas realizadas con moco e impronta cervico vaginal du- rante los días estudiados, se les determinó su sensibilidad, especificidad y valor predictivo resultando ser del 75.13% ; 43.95 % y 72.72 % respecti- vamente.

De igual manera se determinaron estos valores para la leche con resultados del 89.84% ; 28.08% y 73.44% respectivamente.

La duración del ciclo estral de las vacas utilizadas en el presente estudio fue de  $21.60 \pm 4.57$  días.

CUADRO 1

PATRON DE RESPUESTA DEL REFLEJO DE FLEHMEN CON MUESTRAS DE MOCO E IMPRONTA CERVICO-VAGINAL DURANTE EL CICLO ESTRAL DE LA VACA. (Día "0" = Estro).

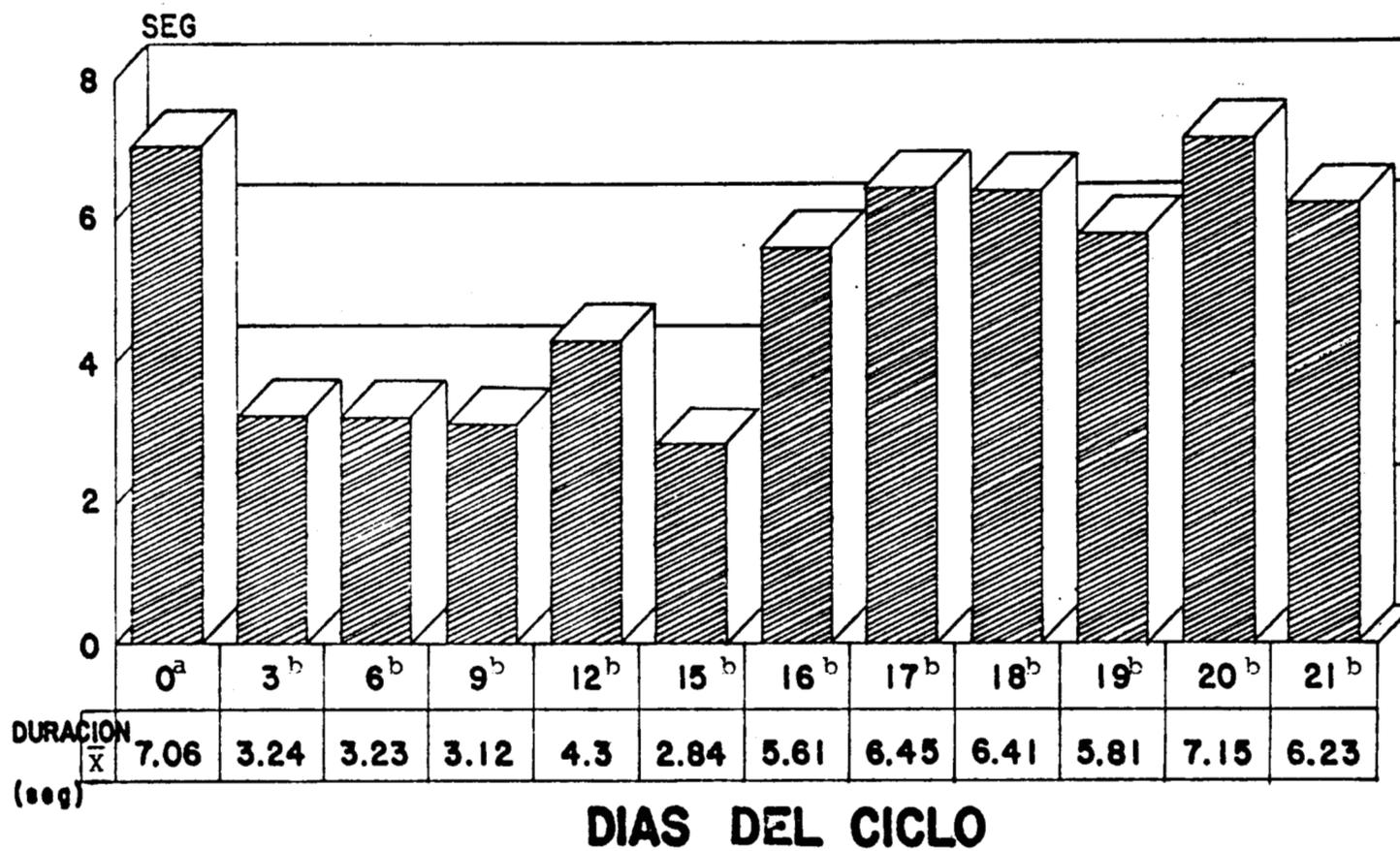
DIA DEL CICLO	NUMERO DE OBSERVACIONES	DURACION / seg $\bar{X} \pm D.E.$	FRECUENCIA / 2 min $\bar{X} \pm D.E.$
"0" <sup>a</sup>	33	7.06 $\pm$ 2.08	2.06 $\pm$ 0.54
3 <sup>b</sup>	10	3.24 $\pm$ 3.90	0.66 $\pm$ 0.94
6 <sup>b</sup>	10	3.23 $\pm$ 4.75	0.33 $\pm$ 0.47
9 <sup>b</sup>	10	3.12 $\pm$ 3.92	0.66 $\pm$ 0.63
12 <sup>b</sup>	10	4.30 $\pm$ 6.50	0.44 $\pm$ 0.68
15	7	2.84 $\pm$ 4.05	0.33 $\pm$ 0.47
16 <sup>b</sup>	39	5.61 $\pm$ 2.72	1.38 $\pm$ 0.86
17 <sup>b</sup>	38	6.45 $\pm$ 3.45	1.42 $\pm$ 0.84
18 <sup>b</sup>	37	6.41 $\pm$ 3.0	1.47 $\pm$ 0.79
19 <sup>b</sup>	35	5.81 $\pm$ 2.94	1.54 $\pm$ 0.87
20 <sup>b</sup>	34	7.15 $\pm$ 2.84	1.58 $\pm$ 0.64
21 <sup>b</sup>	29	6.23 $\pm$ 2.16	1.48 $\pm$ 0.77

a= moco cervical  
b= impronta cervico-vaginal

CUADRO 2

PATRON DE RESPUESTA DEL REFLEJO DE FLEHMEN CON MUESTRAS DE LECHE, DURANTE EL CICLO ESTRAL DE LA VACA. (Día"0"=Estro)

DIA DEL CICLO	NUMERO DE OBSERVACIONES	DURACION / seg $\bar{X} \pm D.E.$	FRECUENCIA / 2 mip $\bar{X} \pm D.E.$
"0"	27	6.41 $\pm$ 2.02	1.29 $\pm$ 0.56
3	10	1.18 $\pm$ 2.34	0.33 $\pm$ 0.66
6	10	1.85 $\pm$ 3.64	0.22 $\pm$ 0.41
9	10	1.74 $\pm$ 2.60	0.33 $\pm$ 0.47
12	10	0.99 $\pm$ 1.86	0.22 $\pm$ 0.40
15	7	1.29 $\pm$ 1.86	0.33 $\pm$ 0.47
16	37	4.32 $\pm$ 3.29	0.91 $\pm$ 0.74
17	36	4.74 $\pm$ 3.68	1.0 $\pm$ 0.81
18	35	5.59 $\pm$ 3.59	1.02 $\pm$ 0.73
19	34	5.33 $\pm$ 3.79	0.88 $\pm$ 0.67
20	33	5.14 $\pm$ 3.41	1.06 $\pm$ 0.91
21	27	5.73 $\pm$ 3.40	1.03 $\pm$ 0.79



a= moco cervical  
b= impronta cervico-vaginal

Fig.5 PATRON DE RESPUESTA DEL REFLEJO DE FLEHMEN (DURACION/seg), CON MUESTRAS DE MOCO E IMPRONTA CERVICO-VAGINAL DURANTE EL CICLO - ESTRAL DE LA VACA. (Dia "0"= Estro).

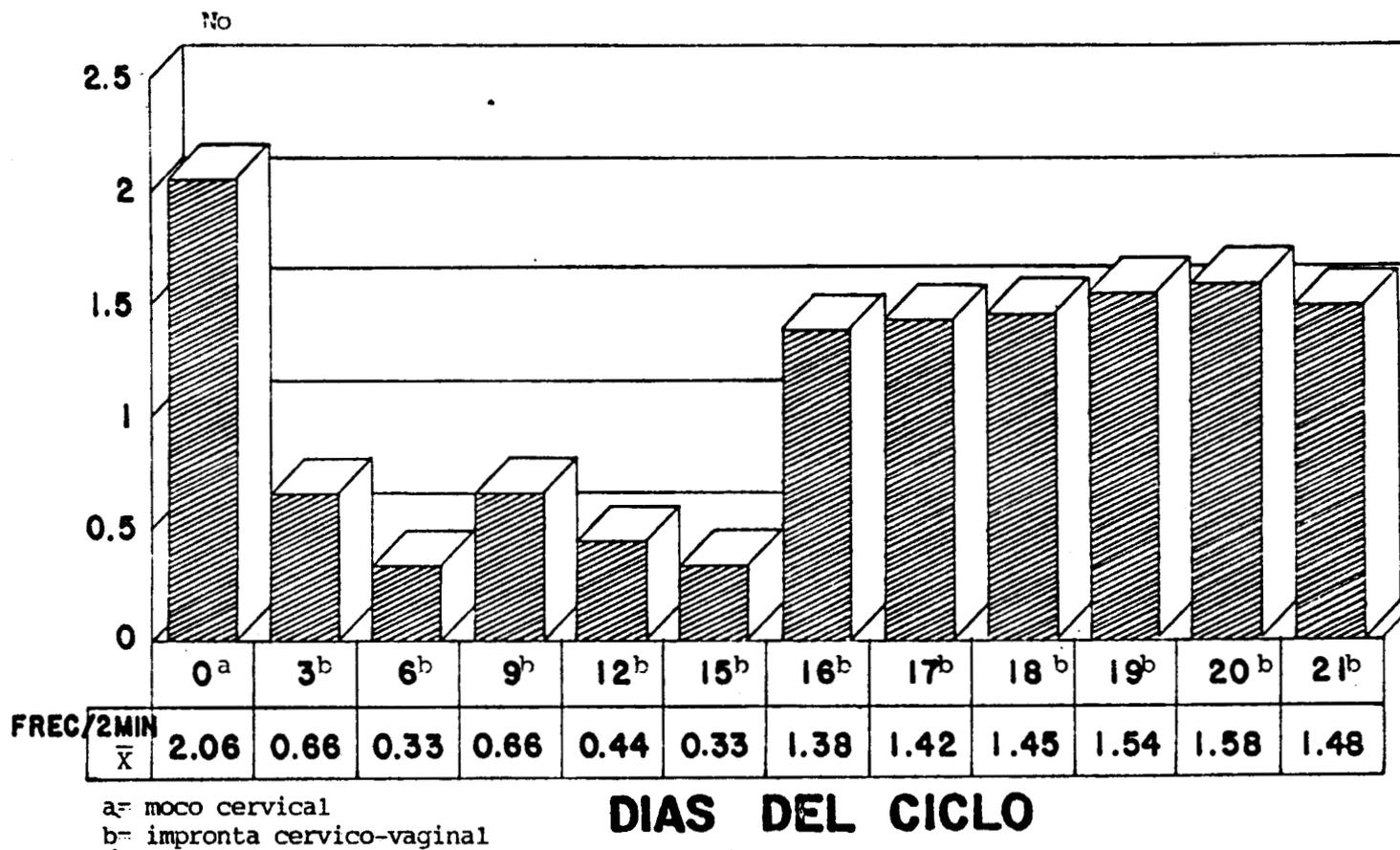


Fig. 6 PATRON DE RESPUESTA DEL REFLEJO DE FLEHMEN (FRECUENCIA/2 min), CON MOCO E IMPRONTA CERVICO-VAGINAL DURANTE EL CICLO ESTRAL DE LA VACA. (Dia "0"= Estro).

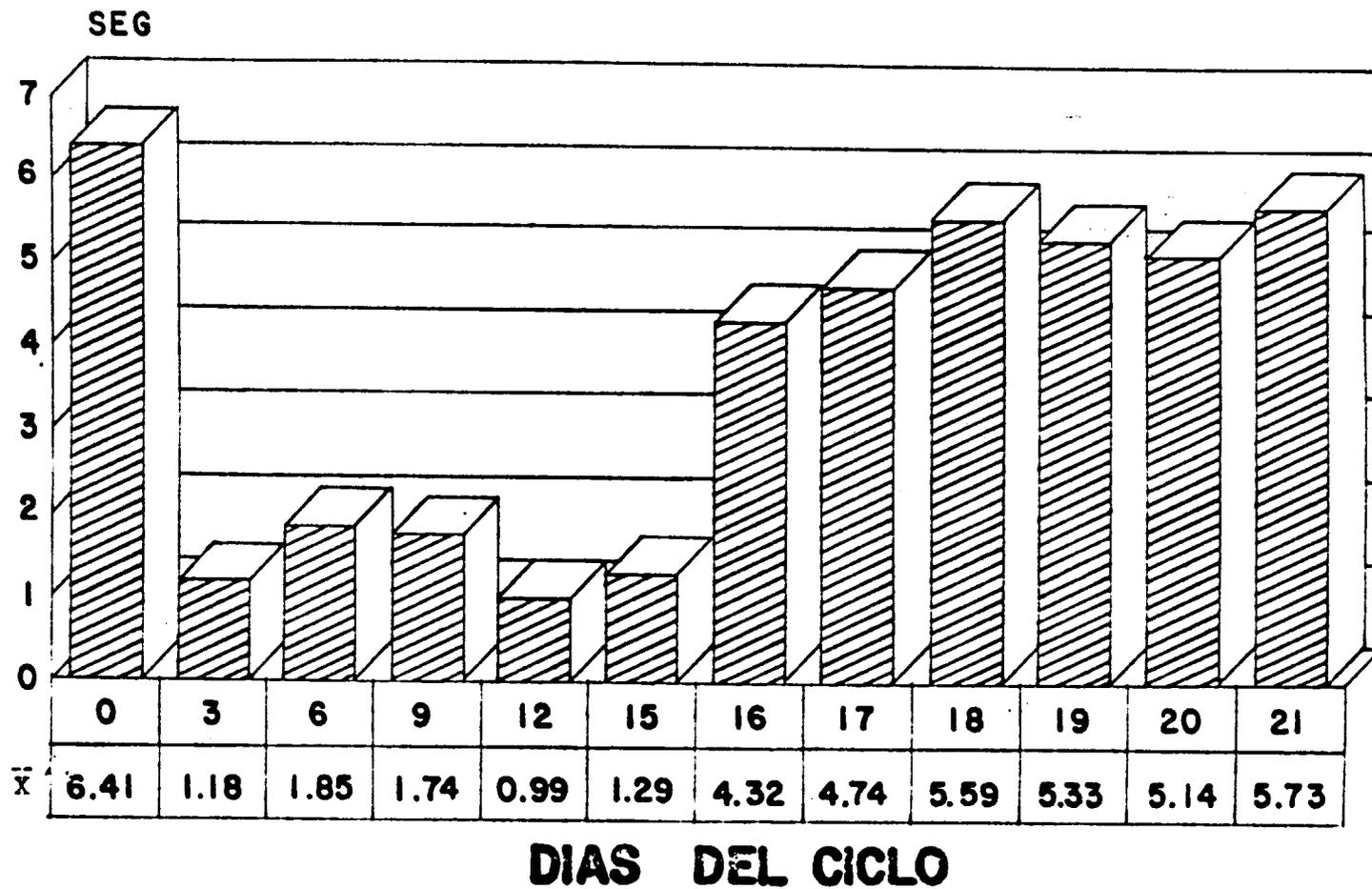


Fig. 7 PATRON DE RESPUESTA DEL REFLEJO DE FLEHMEN (DURACION/seg), CON MUESTRAS DE LECHE, DURANTE EL CICLO ESTRAL DE LA VACA. (Dia "0"= Estro).

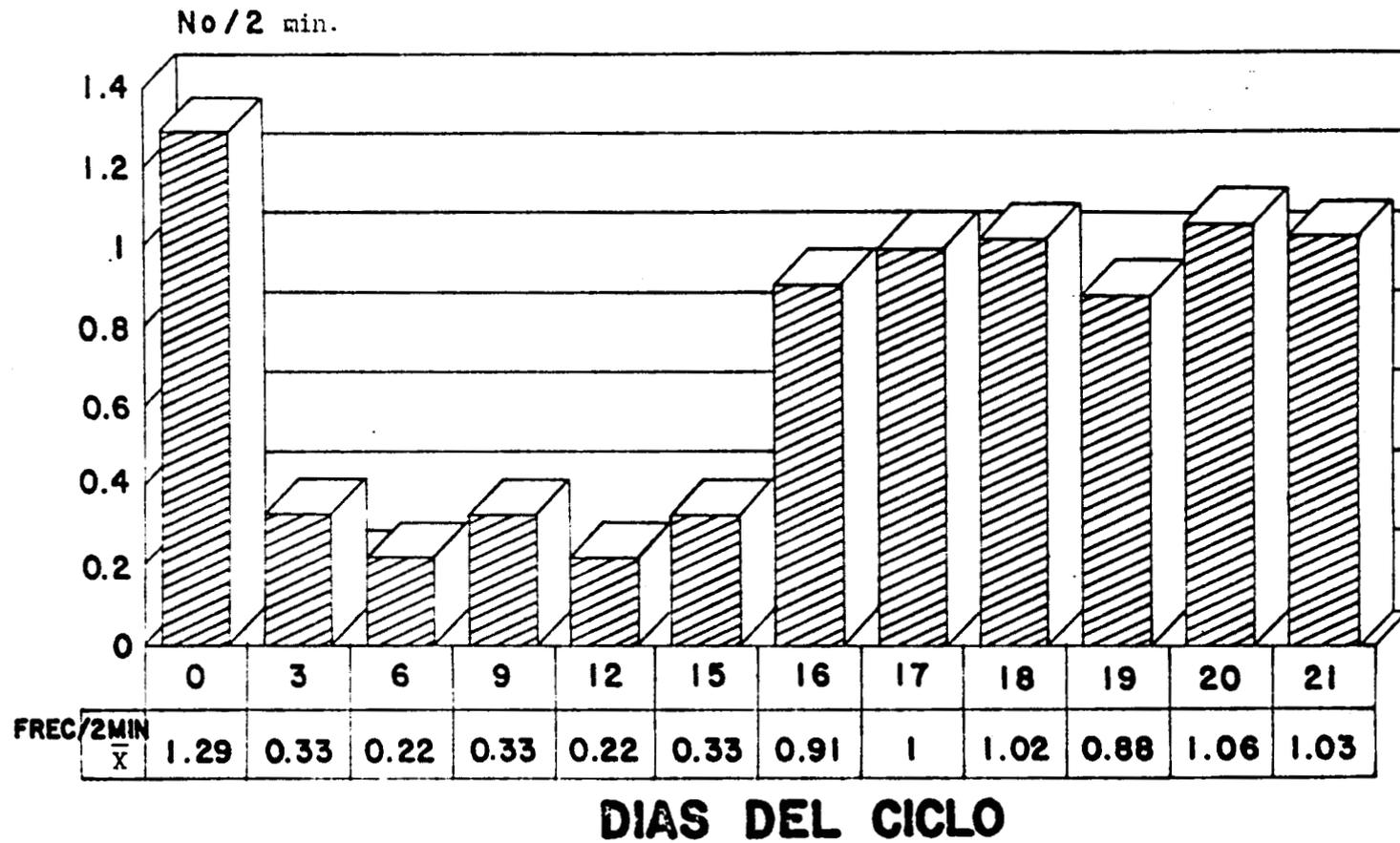


Fig. 8 PATRON DE RESPUESTA DEL REFLEJO DE FLEHMEN (FRECUENCIA/2 min), CON MUESTRAS DE LECHE, DURANTE EL CICLO ESTRAL DE LA VACA. (Dia"0"=Estro).

## V DISCUSION.

Los resultados obtenidos con muestras de moco e impronta cérvico-vaginal sugieren que la capacidad de estos fluídos para inducir el RF varía de acuerdo a la etapa del ciclo estral en que se encuentran las vacas. Tomando en cuenta que la duración promedio del ciclo estral de la vaca lechera es de 17 a 23 días y que ésta actividad cíclica sexual se ha dividido en dos fases; la folicular (proestro y estro) y la lútea (metaestro y diestro), se ha observado que la primera tiene una duración promedio de 3 a 5 días y la segunda de 15 a 17 días (36).

Con base en lo anterior el comportamiento observado en los valores promedio obtenidos durante el ciclo estral sugiere que las características olorosas tanto del moco, como de las improntas cérvico-vaginales se modifican de acuerdo a la etapa del ciclo estral en que se encuentre la vaca. Es de sumo interés el hecho que se puede apreciar una polarización de los resultados obtenidos, ya que fue precisamente en los días en donde ocurre una influencia estrogénica importante (0, 16, 17, 18, 19, 20 y 21 post-estro) en donde se registraron los valores más altos de duración y frecuencia para el RF. En contraste a esto, fue en los días 3, 6, 9, 12 y 15 post-estro en donde se registraron los valores más bajos; dichos días se encuentran ubicados en lo que corresponde a la etapa de metaestro y diestro del ciclo estral.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el moco cérvical funciona como un vehículo y/o contiene substancias olorosas relacionadas con la fase folicular del ciclo estral ya que los experimentos realizados en el presente estudio se basaron en las características olorosas de los fluídos y en la

capacidad olfativa y en consecuencia discriminativa de los toros, los cuales al no tener contacto con ninguna vaca al momento del experimento, solo tenían como posible agente inductor del RF a los olores de los fluidos estudiados.

En cuanto a la evaluación de las improntas cervico-vaginales como agentes inductores del RF, es importante mencionar que éstas son una mezcla de orina y secreción cervico-vaginal, por lo que los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por Kiddy y colaboradores (47,49,50) y por Paleologou (64) en el sentido de que éstos fluidos muestran un olor característico durante los días próximos al estro y desaparecen ó se atenúan durante el metaestro y el diestro.

Con respecto a la leche, se encontró que ésta de igual manera que los otros fluidos probados, tiene la capacidad de inducir el RF en los toros. Los resultados obtenidos en cuanto a la duración y frecuencia con que se presentó el RF en los toros, indican que existe una diferencia significativa en el patrón de respuesta del RF a lo largo del ciclo estral de la vaca. Lo anterior sugiere que las características olorosas de la leche también se modifican de acuerdo a la etapa del ciclo estral en que se encuentra la vaca, ya que los valores promedio más altos se obtuvieron en los experimentos realizados durante los días "0", 16,17,18,19,20 y 21 del ciclo estral, lo que hace suponer que de manera similar a los otros fluidos evaluados, la leche también pudiera funcionar como un indicador del período reproductivo de las vacas. Por otro lado, fue en los días 3,6,9, 12 y 15 post-estro en donde se registraron los valores más bajos y es precisamente durante este lapso cuando la hembra se encuentra bajo influencia progestacional.

El hecho que durante el período de no estro, se hayan presentado algunas reacciones de Flehmen, sugiere que las feromonas sexuales también pudieran estar presentes en cantidades pequeñas durante lo que - correspondería a la fase lútea del ciclo estral de la vaca. Otro aspecto importante es el hecho que las pruebas realizadas con agua como control en el presente estudio, en ningún caso dieron una respuesta de Flehmen positiva, lo que nos indica que dicha respuesta está dada por el estímulo de substancias con características olorosas particulares.

Los resultados obtenidos concuerdan con estudios previos (27, 38) en el sentido que el toro es capaz de predecir el inicio del estro, aún con varios días de anticipación por medio del análisis de las características olorosas de las excreciones de la vaca. Lo anterior se verificó por medio de la determinación de la sensibilidad, especificidad y valor predictivo de las pruebas realizadas con los diferentes fluidos, para conocer su capacidad de detección del inicio del estro. Los resultados sugieren que éstas pruebas pudieran ser de utilidad para este fin, sin embargo es necesario realizar más estudios al respecto, incrementando el número de observaciones para todos los días que dure el ciclo estral, con el fin de obtener resultados más exactos ya que en el presente estudio se observó que éstas pruebas tienen una sensibilidad y un valor predictivo superior al 70%, sin embargo su especificidad resultó ser muy limitada.

Lo anterior es de considerable importancia en el terreno de la producción animal, ya que una de las principales causas de ineficiencia reproductiva en los hatos lecheros en los que se utiliza monta controlada

e inseminación artificial, es la dificultad para detectar aquellas vacas que se encuentran en etapa de estro. Para tratar de remediar éste problema se han ideado una serie de técnicas de detección, como la propuesta por Quintal y Colaboradores (69), sin embargo algunas no son factibles de utilizarse con fines prácticos ya que se requiere de un equipo y de personal especializado para poder realizarse, además que algunas son costosas, otros métodos muestran poca exactitud por lo que no se recomienda su uso. La observación de la conducta sexual de las vacas mantenidas en corrales, realizada por personal destinado a este fin es una práctica muy común sin embargo debido a problemas de horario y algunas veces de falta de interés por parte de dicho personal, se registran muchas fallas en la detección de estros, por lo que las pruebas de tipo conductual, como es el caso de las características del RF a lo largo del ciclo estral de la vaca, pueden ser un método de utilidad en la identificación de vacas para la inseminación artificial.

Finalmente, los resultados de este trabajo coinciden con los reportes hechos por Kiddy y Colaboradores (47,48,49 y 50) en cuanto a que las secreciones cervico vaginales y la leche provenientes de vacas en estro son un vehículo y/o contienen sustancias olorosas asociadas al estro. Sin embargo a diferencia de éstos trabajos en los que se utilizaron perros entrenados para evaluar los diferentes fluidos corporales, el presente estudio tiene la ventaja que la evaluación de los fluidos se fundamentó en la capacidad de éstos para inducir en el toro el RF, el cual es un acto estereotípico característico de los machos de la mayoría de las especies de ungulados (25). Dado que se considera que las feromonas son mensajeros químicos que provocan una reacción específica en un individuo receptor de la misma especie (45), el hecho de haber utilizado machos de la misma especie y raza

para evaluar los fluidos corporales, elimina posibles errores de percepción dados por una diferencia de especie.

VI. LITERATURA CITADA

1. Agmo, A. and Södersten, P (1975): Sexual behavior in castrated rabbits treated with testosterone, oestradiol, dihydrotestosterone or oestradiol in combination with dihydrotestosterone. J. Endocrinol. 67:327-332.
2. Benham, P.F. (1982): Synchronization of behavior in grazing cattle. Appl. Anim. Ethol. 8: 403.
3. Beyer, C., Moralí, G., Larsson, K. and Södersten. (1976): Steroid regulation of sexual behavior. J. Steroid Biochem. 7: 1171-1176.
4. Bland, K.P. and Jubilan, B.M. (1987): Correlation of flehmen by male sheep with female behavior and oestrus. Anim. Behav. 35: 735-738
5. Blissitt, M.J., Bland, K.P. and Cottrell, D. (1990): Discrimination between the odours of fresh oestrous and non-oestrous ewe urine by rams. Appl. Anim. Behav. Sci. 25: 51-59.
6. Blockey, M.A. de B. (1979): Observations on group mating of bulls at pasture. Appl. Anim. Ethol. 5: 15-34.
7. Bradley, P. and Winans, S. (1975): Vomeronasal organ: Critical role in mediating sexual behavior of the male hamster. Science. 157: 961-963.

8. Bradley, P., Fields, R. and Winans, S. (1979): Olfactory and Vomeronasal system participation in male hamsters' attraction to female vaginal secretions. Physiol. Behav. 22: 77-84.
9. Bronson, F.H. (1979). Hormonal responses to primer pheromones in mammals. Acta endocr. Suppl. 225: 429.
10. Bruce, H.M. (1970): Pheromones. B.r. Med. Bull. 26: 10 - 13.
11. Chambers, K.C. and Phoenix, C.H. (1984). Testosterone and the decline of sexual behavior in aging male rats. Behav. and Neural Biol. 40: 87 - 97.
12. Chenoweth, P.J. Brinks, J.S. and Nett, T.M. (1979). A comparison of three methods of assessing sex-drive in yearling beef bulls and relationships with testosterone and LH levels. Theriogenology. 12:223 - 233.
13. Chenoweth, P.J. (1981). Libido and mating behavior in bulls, boars and rams. A review. Theriogenology. 16: 155 - 177.
14. Claus, R. (1979). The boar as model of a steroidal pheromone. (1979). - Acta endocr. Suppl. 225: 432.
15. Clarke, I.J. (1977): The sexual behavior of prenatally androgenized ewes observed in the field. J. Reprod. Fert. 49: 311 - 315.

16. Cohen-Tannoudji, J., Levenet, C., Locatelli, A. and Signoret, J. (1989): Non-involvement of the accessory olfactory system in the LH response of anoestrous ewes to male odour. J. Reprod. Fert. 86: 135 - 144.
17. Davidson, J.M. (1969): Effects of estrogen on the sexual behavior of male rats. Endocrinology. 84: 1365 - 1372 .
18. Ellendorff, F., Konda, N. and Reinhardt, W. (1979). Olfactory perception in brain unit. Responses to pheromones. Acta endocr. Suppl. 225: 428.
19. Esslemont, R.J. (1976): Oestrous behavior in a herd of dairy cows. Vet. Rec. 11: 472 - 475 .
20. Esslemont, R.J. (1980): A quantitative study of pre-ovulatory behavior in cattle (British Friesian helpers). Appl. Anim. Ethol. 6: 1 - 17 .
21. Estes, R.D. (1972): The role of the vomeronasal organ in mammalian reproduction. Mammalia 36: 315 - 341.
22. Federm, H.H., Naftolin, F. and Ryan, J.K. (1974): Male and female sexual responses in male rats given estradiol benzoate and 5 androstan 17  $\alpha$ -3-one propionate. Endocrinology. 94: 136 - 141 .
23. Foote, R.H., Munkenbeck, N. and Greene, W.A. (1976): Testosterone and libido in Holstein bulls of various ages. J. Dairy Sci. 59: 2011 - 2013 .
24. Fraser, A.F. (1960): The influence of psychological and other factors on reaction time in the bull. Cornell Vet. 50: 126 - 132 .

25. Fraser, A.F.: Reproductive behavior in ungulates. Academic Press, London and New York, 1968.
26. Fraser, A.F.: Farm animal behavior. Bailliere Tindall, London, 1980.
27. French, J.M. (1989): Behavioral predictors of oestrus in domestic cattle, *Bos taurus*. Anim. Behav. 38: 913 - 919 .
28. Fulkerson, W.J. (1983): The accuracy of several aids in detecting oestrus in dairy cattle. Appl. Anim. Ethol. 10: 199 - 208 .
29. García, F.J.: Descripción de los patrones generales del comportamiento sexual y efecto de la actividad sexual sobre el peso corporal y características del semen del toro. VI Congreso Latinoamericano de Buiatría (memorias). México, D.F. 1987. 182 - 186 .
30. García, M.C., McDonell, S.M. and Kenney, R.M. (1986). Bull sexual behavior tests: Stimulus cow affects performance. Appl. Anim. Behav. Sci. 16: 1 - 10.
31. Glencross, R.G., Esslemont, R.J. and Pope, G.S. (1981). Relationships between the incidence of pre-ovulatory behavior and the concentrations of oestradiol-17 and progesterone in bovine plasma. Appl. Anim. Ethol. 7: 141 - 148 .
32. Gonyou, H.W. and Stricklin, W.R. (1984). Diurnal behavior patterns of feedlot bulls during winter and spring in northern latitudes. J. Anim. Sci. 58: 1075-1083 .

33. González, R., Gómez, R. y Pérez, R.: Comportamiento sexual de la vaca de lidia durante el estro. VI Congreso Latinoamericano de Buiatría (memorias). México, D.F. 1987. 33 - 37 .
34. Hart, L.B. and Jones, T.O. (1975). Effects of castration on sexual Behavior of tropical male goats. Horm. Behav. 6: 247 - 258 .
35. Hawk, H.W. and Kiddy, C.A. (1984). Estrus-related odors in milk detected by trained dogs. J. Dairy Sci. 67: 393 - 397 .
36. Holy, L.: Bases biológicas de la reproducción bovina. ED. Diana, México, 1983.
37. Houpt, K.A., Rivera, W. and Glickstein, L. (1989). The Flehmen response of bulls and cows. Theriogenology. 32: 343 - 350 .
38. Hradecky, P., Sis, R.F. and Klemm, W.R. (1983). Distribution of Flehmen - reactions of the bull throughout the bovine estrous cycle. Theriogenology. 20: 197 - 204.
39. Hulet, C.V., Ercanbrack, K. and Price, D. (1962). Mating behavior of the ram in the one-sire pen. J. Anim. Sci. 21: 857 - 864 .
40. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. (INEGI). Síntesis, geográfica, nomenclator y anexo cartográfico del estado de Querétaro. México, 1986.

41. Izard, M.K. and Vandenberg, J.G. (1982). Priming pheromones from oestrous cow increase synchronization of oestrous in dairy heifers after PGF-2 injection. J. Reprod. Fert. 66: 189-196.
42. Izard, M.K. and Vandenberg, J.G. (1982). The effects of bull urine on puberty and calving date in crossbred beef heifers. J. Anim. Sci. 55: 1160-1168.
43. Jacobs, V.L., Sis, R.F. and Chenoweth, P.J. (1980). Tongue manipulation of the palate assists estrous detection in the bovine. Theriogenology. 13: 353-357.
44. Kaneko, N., Debski, E. and Whitten, W. (1980). Puberty acceleration in mice. II. Evidence that the vomeronasal organ is a receptor for the primer pheromone in male mouse urine. Biol. Reprod. 22: 873-878.
45. Karlson, P. and Lüscher, M. (1959). Pheromones: a new term for a class of biologically active substances. Nature. 183:55-56.
46. Houpt, K. and Wollney, G. (1989). Frequency of masturbation and time budgets of dairy bulls used for semen production. Appl. Anim. Behav. Sci. 24:217-225.
47. Kiddy, C.A., Mitchell, D.S., Bolt, D.J. and Hawk, H.W. (1978). Detection of estrus-related odors in cows by trained dogs. Biol. Reprod. 19:389-395.

48. Kiddy, C.A., Conley, H.H. and Hawk, H.W. (1980). Identification by trained dogs of milk samples from estrous cows. J. Dairy Sci. 63 (suppl. 1): 01.
49. Kiddy, C.A. and Mitchell, D.S. (1981). Estrus-related odors in cows: Time of occurrence. J. Dairy Sci. 64: 267 - 271.
50. Kiddy, C.A., Mitchell, D.S. and Hawk, H.W. (1984). Estrus-related odors in body fluids of dairy cows. J. Dairy Sci. 67: 388 - 391.
51. Kiser, T.E., Britt, J.R. and Ritchie, H.D. (1977). Testosterone treatment of cows for use in detection of estrus. J. Anim. Sci. 44: 1030 - 1035 .
52. Klem, W.R., Sherry, C.J. and Sis, R.F. (1983). Homosexual behavior in feedlot steers: An aggression hypothesis. Appl Anim. Ethol. 11: 187 - 195.
53. Kratzing, J. (1971). The structure of the vomeronasal organ in the sheep J. Anat. 108: 247 - 260 .
54. Ledewig, J. and Hart, B. (1980). Flehmen and vomeronasal organ function in male goats. Physiol. Behav. 24: 1060 - 1071 .
55. Lunstra, D.D., Boyd, G.W. and Corah, L.R. (1989). Effects of natural mating stimuli on serum luteinizing hormone, testosterone and estradiol-17 in yearling beed bulls. J. Anim. Sci. 67: 3277 - 3288 .

56. Macrides, F., Singer, A.G. and Agosta, W. (1984). Male hamster investigatory and copulatory responses to vaginal discharge: Relationship to the endocrine status of females. Physiol. Behav. 33: 633 - 637 .
57. Macrines, F., Clancy, A.G., Singer, A.G. and Agosta, W. (1984). Male Hamster investigatory and copulatory responses to vaginal discharge: An attempt to impart sexual significance to an arbitrary chemosensory stimulus. Physiol. Behav. 33: 627 - 632 .
58. Marinier, S.L., Alexander, A.J. and Waring, G.H. (1988). Flehmen Behavior in the domestic horse: Discrimination of conspecific odours. Appl. Anim. Behav. Sci. 19: 227 - 237 .
59. Morali, G., Larsson, K. and Beyer C. (1977). Inhibition of testosterone induced sexual behavior in the castrated male rat by aromatase blockers. Horm. Behav. 9: 203 - 213 .
60. Murphy, MR.: Olfactory impairment, olfactory bulb removal, and mammalian reproduction. In: Mammalian olfaction; reproductive processes; and - behavior. Academic Press, New York, 1976.
61. O'Brien, P. (1982). Flehmen: Its occurrence and possible functions in feral goats. Anim. Behav. 30: 1015 - 1019 .
62. Olivera, L.J., Delgado, L. and Fernández M. (1984). Patrón de conducta sexual en ganado cebú (Bos Indicus). 10 th. International Congress on - Animal Reproduction and Artificial Insemination (memories). Urbana -- 11. U.S.A.

63. Orihuela, A., Galina, C., Escobar, J. and Riquelme, E. (1983). Estrous behavior following prostaglandin F<sub>2</sub> injection in zebu cattle under continuous observation. Theriogenology. 19 : 795 - 809 .
64. Paleologou, A.M. (1977). Detecting oestrus in cows by a method based on bovine sex pheromones. Vet. Rec. 100: 319 - 320 .
65. Pepelko, W.E., and Clegg, M.T. (1965). Influence of season of the year upon patterns of sexual behavior in male sheep. J. Anim. Sci. 24: 633 - 637 .
66. Petit, T., Poilane, A. and Seitre, R. (1989). Etude préliminaire du répertoire comportemental et de l'activité journalière de l'oryx d' Arabie. Mammalia. 53: 153 - 163 .
67. Poindron, P., Cognie, Y., Gayerie, F. and Ravault, J. (1980). Changes in gonadotrophins and prolactin levels in isolated (Seasonally or lactationally) anovular ewes associated with ovulation caused by the introduction of rams. Physiol. Behav. 25: 227 - 236 .
68. Price, E., Smith, V. and Katz, L. (1986). Stimulus conditions influencing self-enurination, genital grooming and Flehmen in male goats. Appl. Anim. Behav. Sci. 16: 371 - 381 .

69. Quintal, J., Heredia, M. and Rodríguez, R.O. (1988). Detección del estro en un rebaño de ovejas pelibuey con virilización de hembras androgenizadas. Tec. Pec. Mex. 26: 1 - 7.
70. Reinhardt, V., Mutiso, F.M. and Reinhardt, A. (1978). Social behavior and social relationships between female and male prepubertal bovine calves (*Bos Indicus*). Appl. Anim. Ethol. 4: 43 - 54 .
71. Reinhardt, V. (1983). Flehmen, mounting and copulation among members of a semi-wild cattle herd. Anim. Behav. 31: 641 - 650 .
72. Reynolds, J. and Keverne, E.B. (1979). The accessory olfactory system and its role in the pheromonally mediated suppression of oestrus in grouped mice. J. Reprod. Fert. 57: 31 - 35 .
73. Roark, D.B. and Herman, H.A.: Physiological and histological phenomena of the bovine estrual cycle with special reference to vaginal-cervical secretions. University of Missouri. Columbia, Missouri. 1950 .
74. Sharon, C. and Katherine, H. The ontogeny of flehmen in horses. Anim. Behav. 33: 739 - 745 .
75. Signoret, J.P. (1970). The reproductive behavior of pigs in relation to fertility. Vet. Rec. 88: 34 - 38 .
76. Singer, A., Connell, R. and Bowen, D. (1976). Dimethyl disulfide: An attractant pheromone in hamster vaginal secretion. Science. 195: 948 - 950.

77. Singer, A., Clancy, A., Macrides, and Agosta, W. (1984). Chemical studies of hamster vaginal discharge: effects of endocrine ablation and protein digestion on behaviorally active macromolecular fractions. Physiol. Behav. 33: 639 - 643 .
78. Singer, A., Clancy, A., Macrides, F. and Agosta, W. (1984). Chemical studies of hamster vaginal discharge: Male behavioral responses to a high molecular weight fraction require physical contact. Physiol. Behav. 33: 645 - 651 .
79. Snedecor, G.W., Cochran, W.G.: Statistical Methods. 7th. Ed. Iowa state University Press, Iowa, U.S.A., 1980.
80. Thibier, M. (1975). Peripheral plasma testosterone concentrations in bulls around puberty. J. Reprod. Fert. 42: 567 - 569 .
81. Thibier, M. (1976). Diurnal testosterone and 17 hydroxyprogesterone in peripheral plasma of young post-pubertal bulls. Acta Endocrinol. 81: 623 - 634 .
82. Valencia, M.J.: Fisiología de la reproducción porcina. Ed. Trillas, México, D.F. 1986.
83. Vandenbergh, J. (1973). Effects of central and peripheral anosmia on reproduction of female mice. Physiol. Behav. 10: 257 - 261

84. Wallis, C. and Luttge, W. (1975). Maintenance of male sexual behavior by combined treatment with oestrogen and dihydrotestosterone in CD-1 mice. J. Endocr. 66: 257 - 262 .
85. Wayne, W.D.: Bioestadística. Ed. Limusa. México, D.F. 1980.
86. Whitten, W.K. (1985). Vomeronasal organ and the accessory olfactory - system. Appl. Anim. Behav. Sci. 14: 105 - 109 .
87. Wodzicka, M.T., Kilgour, R. and Ryan, M. (1981). "Libido" in the larger farm animals: A review. Appl. Anim. Ethol. 7: 203 - 238 .
88. Wysocki, C., Katz, Y. and Bernhard, R. (1983). Male vomeronasal organ - mediates female-induced testosterone surges in mice. Biol. Reprod. 28: 917 922 .
89. Zenchak, J.J., Anderson, G. and Schein, M. (1981). Sexual partner preference of adult rams (Ovis aries) as affected by social experiences during rearing. Appl. Anim. Ethol. 7: 157 - 167 .



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA-IZTAPALAPA

18 junio, 90

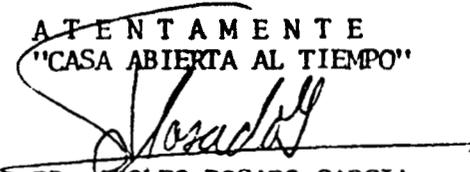
M. en C. EDUARDO POSADAS MANZANO.  
PROF. DEPTO. DE RUMIANTES. F.M.V.Z.  
U.N.A.M.  
P R E S E N T E .

Por este conducto el que suscribe Dr. Adolfo Rosado García, Coordinador de la Maestría en Biología de la Reproducción Animal, de la UAM-Iztapalapa; tiene el agrado de invitar a usted para fungir como miembro del jurado del examen de grado del M.V.Z. Mario Pérez Martínez. Asimismo, efectuar la revisión de su trabajo de tesis titulado:

"Evaluación de diferentes fluidos corporales, como inductores del Reflejo de Flehmen en toros holstein, durante el ciclo estral de la vaca".

Esperando contar con su apoyo, solo me resta enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E  
"CASA ABIERTA AL TIEMPO"



DR. ADOLFO ROSADO GARCIA  
COORDINADOR DE LA MAESTRIA  
EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION  
ANIMAL.

'dzq



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

96921

Cd. Universitaria, D.F. 18 de julio de 1990.

DR. ADOLFO ROSADO GARCIA  
COORD. DE LA MAESTRIA EN  
BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION ANIMAL  
U.A.M. IZTAPALAPA  
P R E S E N T E

En atención a su solicitud, comunico a Usted que la Tesis realizada por el M.V.Z. MARIO PEREZ MARTINEZ, para obtener el grado de Men C. en Biología de la Reproducción Animal, cuyo título es:

"EVALUACION DE DIFERENTES FLUIDOS CORPORALES, COMO INDUCTORES DEL REFLEJO DE FLEHMEN EN TOROS HOLSTEIN, DURANTE EL CICLO ESTRAL DE LA VACA", ha sido revisada y aprobada para su sustentación en el examen de evaluación para optar por el grado.

Sin otro particular por el momento, aprovecho la oportunidad para enviarle un afectuoso saludo.

A t e n t a m e n t e

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

M.en C. EDUARDO POSADAS MANZANO  
Depto. de Prod. Animal Rumiantes  
F.M.V.Z-U.N.A.M.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA-IZTAPALAPA

18 junio, 90

Mtro. RENE FERIA AVENDAÑO.  
Director de la E.M.V.Z. U.A.B.J.O

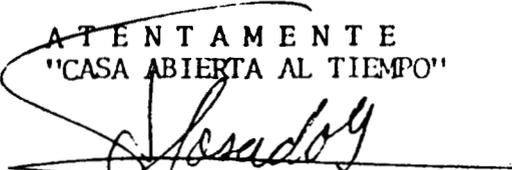
P R E S E N T E .

Por este conducto el que suscribe Dr. Adolfo Rosado García, Coordinador de la Maestría en Biología de la Reproducción Animal, de la UAM-Iztapalapa; tiene el agrado de invitar a usted para fungir como miembro del jurado del examen de grado del M.V.Z. Mario Pérez Martínez. Asimismo, efectuar la revisión de su trabajo de tesis titulado:

"Evaluación de diferentes fluidos corporales, como inductores del Reflejo de Flehmen en toros holstein, durante el ciclo estral de la vaca".

Esperando contar con su apoyo, solo me resta enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E  
"CASA ABIERTA AL TIEMPO"

  
DR. ADOLFO ROSADO GARCIA  
COORDINADOR DE LA MAESTRIA  
EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION  
ANIMAL.

*Recibí original.  
22/Sep/90  
[Handwritten signature]*  
'dzq



# Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Ciudad Universitaria Tel. 6-17-08 Exts. 25 y 27. 5 Señores. Oaxaca, Oax.

Oficio No. 302/990.

Oaxaca, Oax., a 5 de julio de 1990.

DR. ADOLFO ROSADO GARCIA  
COORD. DE LA MAESTRIA EN  
BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION ANIMAL  
P R E S E N T E .

Por este conducto me permito informar a Usted que ha revisado el trabajo de Tesis del M.V.Z. MARIO PEREZ MARTINEZ, cuyo título es: "EVALUACION DE DIFERENTES FLUIDOS CORPORALES, COMO INDUCTORES DEL REFLEJO DE FLEHMEN EN TOROS HOLSTEIN, DURANTE EL CICLO ESTRAL DE LA VACA", resultando ser dictaminado favorablemente.

Sin otro particular por el momento, le envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E .

"CIENCIA, ARTE, LIBERTAD"

M.V.Z. RENE FERIA AMENDANO, S. R.  
DIRECTOR.



C.c.p. El C. Dr. Odavías Martínez Soriano, Secretario Académico de la U.A.B.J.J.- Pts.

C.c.p. El interesado.-Para su conocimiento.

C.c.p. El minutarlo.

RFA\*1el.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA - IZTAPALAPA

18 junio, 90

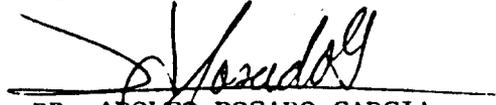
M. en C. JORGE I. OLIVERA LOPEZ.  
DEPTO. BIOL. DE LA REPRODUCCION  
U.A.M. IZTAPALAPA.  
P R E S E N T E .

Por este conducto el que suscribe Dr. Adolfo Rosado García, Coordinador de la Maestría en Biología de la Reproducción Animal, de la UAM-Iztapalapa; tiene el agrado de invitar a usted para fungir como miembro del jurado del examen de grado del M.V.Z. Mario Pérez Martínez. Asimismo, efectuar la revisión de su trabajo de tesis titulado:

"Evaluación de diferentes fluídos corporales, como inductores del Reflejo de Flehmen en toros holstein, durante el ciclo estral de la vaca".

Esperando contar con su apoyo, solo me resta enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"CASA ABIERTA AL TIEMPO"



DR. ADOLFO ROSADO GARCIA  
COORDINADOR DE LA MAESTRIA  
EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION  
ANIMAL.

Recibi  
  
18-VI-90

'dzq



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA-IZTAPALAPA

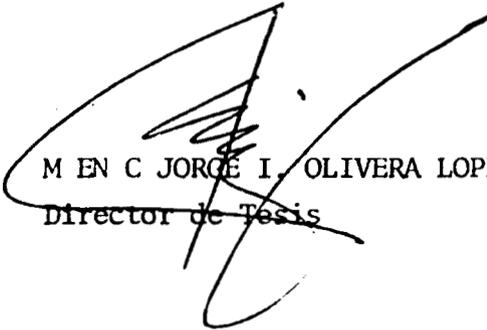
México, D.F. a 14 de Junio de 1990.

DR. ADOLFO ROSADO GARCIA  
COORD. DE LA MAESTRIA EN  
BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION ANIMAL  
P R E S E N T E

Por este conducto me permito informar a usted que la tesis realizada por el M.V.Z. MARIO PEREZ MARTINEZ, para optar por el grado de M en C. en Biología de la Reproducción Animal, cuyo título es:  
"EVALUACION DE DIFERENTES FLUIDOS CORPORALES, COMO INDUCTORES DEL REFLEJO DE FLEHMEN EN TOROS HOLSTEIN, DURANTE EL CICLO ESTRAL DE LA VACA", ha sido revisada y aprobada para su sustentación en el examen de evaluación para optar el grado.

Sin otro particular por el momento, le envío un cordial saludo.

A t e n t a m e n t e ,  
"CASA ABIERTA AL TIEMPO"



M EN C JORGE I. OLIVERA LOPEZ  
Director de Tesis



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

---

México D.F., a 20 de Julio de 1990.

DR. ADOLFO ROSADO GARCIA.  
Coord. de la Maestría en  
Biología de la Reproducción Animal.  
P R E S E N T E :

En relación a su invitación para participar como miembro del jurado del examen de Grado del MVZ. MARIO PEREZ MARTINEZ y para revisar su trabajo de tesis me permito informar a usted que he aceptado y que la tesis realizada por él para optar por el grado de M en C. en Biología de la Reproducción Animal, cuyo título es: "EVALUACION DE DIFERENTES FLUIDOS CORPORALES, COMO INDUCTORES DEL REFLEJO DE FLEHMEN EN TOROS HOLSTEIN, DURANTE EL CICLO ESTRAL DE LA VACA", ha sido revisada y APROBADA para su sustentación en el examen de evaluación para optar al grado.

Sin otro particular por el momento, le envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E .

*Gabriela Morali B.*

DRA. GABRIELA MORALI DE LA BRENA.  
DEPTO. DE BIOL. DE LA REPRODUCCION.  
U.A.M. IZTAPALAPA.

GM/cd.