



## Effect of restricted suckling and feed supplementation on postpartum follicular development and ovarian activity in beef cows

### Efecto del amamantamiento restringido y la complementación alimenticia sobre el desarrollo folicular y actividad ovárica postparto en vacas carnicas

Severino Lendecky, V. H.<sup>1</sup>, Montiel Palacios, F.<sup>2</sup>, Ahuja Aguirre, C. C.<sup>2</sup>,  
Gómez de Lucio, H.<sup>3</sup>, Piñeiro Vázquez, A. T.<sup>3</sup>, Chay Canul, A. J.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Centro de Estudios Etnoagropecuarios, Universidad Autónoma de Chiapas. Blvd. Javier López Moreno S/N, San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México. C.P. 29264.

<sup>2</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana. Circunvalación Esq. Yáñez s/n, Col. Unidad Veracruzana, Veracruz, Veracruz, México. C.P. 91710.

<sup>3</sup>Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Conkal, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Avenida Tecnológico s/n Conkal, Yucatán, México. C.P. 97345.

<sup>4</sup>División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carretera Villahermosa-Teapa, Km 25, Villahermosa, Tabasco. C.P. 86280.

**Cite this paper/Como citar este artículo:** Severino Lendecky, V. H., Montiel Palacios, F., Ahuja Aguirre, C. C., Gómez de Lucio, H., Piñeiro Vázquez, A. T., Chay Canul, A. J. (2020). Effect of restricted suckling and feed supplementation on postpartum follicular development and ovarian activity in beef cows. *Revista Bio Ciencias* 7, e732. doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e732>



The objective of the study was to evaluate the effect of restricted suckling and feed supplementation on postpartum follicular development and blood progesterone ( $P_4$ ) and estradiol ( $E_2$ ) concentrations in beef cattle. One hundred and twenty lactating Simbrah cows were distributed into four treatments: T1) Continuous suckling with feed supplementation (CCC, n=30), T2) Restricted suckling without feed supplementation (RSC, n=30), T3) Restricted suckling with feed supplementation (RCC, n=30), and T4) Continuous suckling without feed supplementation (CSC, n = 30). Each cow from T1 and T3 received 4

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto del amamantamiento restringido y la complementación alimenticia sobre el desarrollo folicular posparto y la concentración sanguínea de progesterona ( $P_4$ ) y estradiol ( $E_2$ ) en bovinos de carne. Se utilizaron 120 vacas Simbrah lactantes, distribuidas en cuatro tratamientos: T1) Amamantamiento continuo con complementación alimenticia (CCC, n=30), T2) Amamantamiento restringido sin complementación alimenticia (RSC, n=30), T3) Amamantamiento restringido con complementación alimenticia (RCC, n=30), y T4) Amamantamiento continuo sin complementación alimenticia (CSC, n=30). Cada vaca de los grupos T1 y T3 recibió diariamente 4 kg de alimento comercial balanceado (19 % CP y 73.26 % TND). A lo largo del estudio, se determinó la dinámica folicular ovárica y la presencia de cuerpo lúteo mediante ultrasonografía transrectal, y se midieron las concentraciones sanguíneas

#### Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: May 5<sup>th</sup> 2019.

Accepted/Aceptado: February 10<sup>th</sup> 2020.

Available on line/Publicado: February 17<sup>th</sup> 2020.

#### \*Corresponding Author:

Severino Lendecky, Víctor Hugo. Centro de Estudios Etnoagropecuarios, Universidad Autónoma de Chiapas. Blvd. Javier López Moreno S/N, San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México. C.P. 29264. Phone: +52(916) 348 7114 E-mail: [vhseverino@hotmail.com](mailto:vhseverino@hotmail.com)  
<https://directorio.unach.mx/directorio.php?d=60>

kg of a commercial feed supplement daily (19 % CP and 73.26 % TDN). Throughout the study, the follicular dynamics and the presence of a corpus luteum were determined through transrectal ultrasonography, and blood concentrations of  $P_4$  and  $E_2$  were measured. The results were evaluated by univariate repeated measures ANOVA, Chi-square, Kaplan-Meier survival analysis and logistic regression. The number, follicular diameter (mm) and blood concentration of  $P_4$  (ng/mL) and  $E_2$  (pg/ml) were higher in T3 compared to the other treatments ( $p < 0.05$ ). It can be concluded that restricted suckling, along with feed supplementation, reduced postpartum anestrus in Simbrah cows under tropical conditions, through the increase in the number and diameter of ovarian follicles and in blood concentrations of  $P_4$  and  $E_2$ .

---

### KEY WORDS

---

Postpartum anestrus, nutrition, ovulation, restricted suckling.

---

### Introduction

The main goal of any cow-calf production system (beef production) is to obtain one calf per cow per year, because this is the factor with the greatest economic impact in any cattle production unit (Hess *et al.*, 2005; Mejía-Bautista *et al.*, 2010). Thus, estrus manifestation within a relatively short period after calving ( $\leq 90$  days) is of paramount importance, since it optimizes the reproductive performance of cows and guarantees a steady calf production (Hess *et al.*, 2005; Martins *et al.*, 2012). Despite the productive and economic importance of postpartum anestrus in cattle (Ciccioli *et al.*, 2003; Mejía-Bautista *et al.*, 2010), the reproductive performance of beef cows in tropical regions is poor, leading to parturition-to-conception intervals  $\geq 300$  days and conception rates at 45-55 % (Mejía-Bautista *et al.*, 2010; Diskin & Kenny, 2016). These conditions have been attributed mainly to the effect of the cow-calf bond during the suckling period (Galina *et al.*, 2001; Crowe *et al.*, 2014). In addition to the inhibitory effect of the calf presence on the resumption of the postpartum ovarian activity in the cow, if the dam does not have an appropriate nutritional management and/or good body condition (BC), the postpartum ovarian inactivity will remain, prolonging the interval

de  $P_4$  y  $E_2$ . Los resultados se evaluaron mediante ANOVA univariado de medidas repetidas, Chi-cuadrada, análisis de sobrevivencia de Kaplan-Meier y regresión logística. El número, diámetro folicular (mm) y la concentración sanguínea de  $P_4$  (ng/ml) y  $E_2$  (pg/mL) fueron mayores en T3 que en los demás tratamientos ( $p < 0.05$ ). Se puede concluir que el amamantamiento restringido, junto con complementación alimenticia, disminuyó el anestro posparto en vacas Simbrah en el trópico, al incrementar el número y diámetro folicular, así como la concentración sanguínea de  $P_4$  y  $E_2$ .

---

### PALABRAS CLAVE

---

Anestro posparto, nutrición, ovulación, amamantamiento restringido.

---

### Introducción

El objetivo principal de un sistema de producción vaca-cría (producción de destetes para carne) es tener un becerro al año por vaca, por ser el factor que más impacta la rentabilidad de un rancho (Hess *et al.*, 2005; Mejía-Bautista *et al.*, 2010). Es por esto que el reinicio del estro, dentro de un tiempo relativamente corto después del parto ( $\leq 90$  días) es de suma importancia, porque optimiza el comportamiento reproductivo de la vaca y garantiza una producción constante y periódica de crías (Hess *et al.*, 2005; Martins *et al.*, 2012). No obstante, a pesar de la importancia productiva y económica del anestro posparto en el ganado (Ciccioli *et al.*, 2003; Mejía-Bautista *et al.*, 2010), el rendimiento reproductivo de las vacas de carne en las regiones tropicales es deficiente, y se refleja en intervalos entre el parto y la concepción  $\geq 300$  días y tasas de concepción al 45-55 % (Mejía-Bautista *et al.*, 2010; Diskin & Kenny, 2016). Estas condiciones se han atribuido principalmente al efecto del vínculo vaca-becerro que se da durante el amamantamiento (Galina *et al.*, 2001; Crowe *et al.*, 2014). Además, se ha observado que aunado al efecto de la presencia del becerro (como inhibidor del reinicio de la actividad ovárica posparto) durante el amamantamiento, si la vaca no tiene un manejo nutricional adecuado y/o buena condición corporal (BC), se mantendrá el estatus de inactividad ovárica después del parto, prolongando los días abiertos (Crowe, 2008; Diskin & Kenny, 2014; Bayemi *et al.*, 2015; Stevenson *et al.*, 2015; Diskin & Kenny, 2016).

Por lo tanto, controlar la interacción entre el amamantamiento y la nutrición de la vaca se vuelve una

calving-to-conception (days open) (Crowe, 2008; Diskin & Kenny, 2014; Bayemi *et al.*, 2015; Stevenson *et al.*, 2015; Diskin & Kenny, 2016).

Therefore, it becomes a priority to control the interaction suckling-cow nutrition, as it allows an early resumption of postpartum ovarian activity and early conception ( $\leq 90$  days postpartum) (Wettemann *et al.*, 2003; Quintans *et al.*, 2009; Watanabe *et al.*, 2013; Crowe *et al.*, 2014; Diskin & Kenny, 2016). Early weaning and restricted or controlled suckling are the management tools most commonly used to shorten the anestrus postpartum period and therefore to increase the reproductive efficiency of cattle (Galina *et al.*, 2001; Montiel & Ahuja, 2005; Waterman *et al.*, 2012; Barreiros *et al.*, 2014).

In cows, feed supplementation during the postpartum period contributes to reduce the anestrus length, increasing their probability to become pregnant sooner after calving (Wettemann *et al.*, 2003; Watanabe *et al.*, 2013). Thus, cows that kept on a good plane of nutrition during the postpartum period will have good BC and better reproductive performance (Stagg *et al.*, 1998; Crowe, 2008; Stevenson *et al.*, 2015). Nonetheless, the use of this management tool in tropical regions is limited (Galina *et al.*, 2001; Mejía-Bautista *et al.*, 2010) due to insufficient information on how to use it (Galina *et al.*, 2001; Vendramini *et al.*, 2006; Mejía-Bautista *et al.*, 2010; Hernández-Martínez *et al.*, 2011), on the cost of feed supplementation compared to traditional weaning (7-8 months), and the constant handling of the animals that may be required (Galina *et al.*, 2001; Blanco *et al.*, 2009).

Nevertheless, early weaning, restricted suckling and feed supplementation of cows are practical and cost-effective management tools for cow-calf production systems, compared to traditional management (no early weaning, no feed supplementation of the cow); moreover, early weaning improves BC and weight gain in grazing cows, which is necessary to obtain good results during the breeding season (Galina *et al.*, 2001; Quintans *et al.*, 2004; Blanco *et al.*, 2009; Waterman *et al.*, 2012; Martins *et al.*, 2012).

Thus, along with early weaning, it is necessary to offer feed supplementation to cows in order to diminish or inhibit the negative effects caused by the nutritional status and suckling on the postpartum follicular

prioridad zootécnica que facilita las condiciones necesarias para el reinicio de la actividad ovárica y la gestación temprana ( $\leq 90$  días posparto) (Wettemann *et al.*, 2003; Quintans *et al.*, 2009; Watanabe *et al.*, 2013; Crowe *et al.*, 2014; Diskin & Kenny, 2016). El destete temprano y el amamantamiento restringido o controlado son las prácticas zootécnicas que más se han utilizado para acortar el periodo de anestro posparto y hacer más eficiente la reproducción de las vacas (Galina *et al.*, 2001; Montiel & Ahuja, 2005; Waterman *et al.*, 2012; Barreiros *et al.*, 2014).

La complementación alimenticia en el posparto de la vaca coadyuva de manera directa a la reducción del anestro, aumentando las probabilidades de que pueda quedar preñada en un menor tiempo después del parto (Wettemann *et al.*, 2003; Watanabe *et al.*, 2013). Es decir, que las vacas que mantengan una buena alimentación posparto tendrán una adecuada BC y a su vez, mejor desempeño reproductivo (Stagg *et al.*, 1998; Crowe, 2008; Stevenson *et al.*, 2015). Sin embargo, el uso de esta tecnología en regiones tropicales es limitado (Galina *et al.*, 2001; Mejía-Bautista *et al.*, 2010), debido a varios factores que pueden desincentivar en los productores su implementación, por ejemplo, información insuficiente sobre cómo utilizar esta tecnología (Galina *et al.*, 2001; Vendramini *et al.*, 2006; Mejía-Bautista *et al.*, 2010; Hernández-Martínez *et al.*, 2011), el desconocimiento del costo del consumo de alimento comparado con el destete tradicional (7-8 meses de vida), y el manejo constante de los animales que puede requerir (Galina *et al.*, 2001; Blanco *et al.*, 2009).

Sin embargo, los programas de manejo para el destete temprano o para disminuir la frecuencia del amamantamiento, así como la complementación alimenticia estratégica de las vacas, son prácticos y rentables en producciones vaca-cría, comparados al manejo tradicional (sin destete temprano ni complementación alimenticia a la vaca); además, el destete temprano mejora la condición corporal y las ganancias de peso de las vacas bajo condiciones de pastoreo, circunstancias necesarias para obtener buenos resultados en la temporada de empadre (Galina *et al.*, 2001; Quintans *et al.*, 2004; Blanco *et al.*, 2009; Waterman *et al.*, 2012; Martins *et al.*, 2012).

Por lo tanto, junto con el destete temprano, es necesario ofrecer suplementos alimenticios a las vacas para disminuir o inhibir los efectos negativos que el estado nutricional y el amamantamiento ejercen sobre el desarrollo folicular y la ovulación después del parto, y que afectan la concepción temprana. Con base en lo anterior, el objetivo de este

development and ovulation, which affect the parturition-to-conception interval. Therefore, the objective of the study was to determine the effect of restricted suckling and feed supplementation on the postpartum follicular development and serum concentrations of progesterone and estradiol in Simbrah cows.

## Material and Methods

All the procedures conducted during the study were in compliance with the Official Mexican Standard NOM-062-ZOO-1999 on the Technical specifications for the production, care and use of laboratory and experimental animals.

### Study location

The study was conducted at the cattle ranch San José, which is devoted to the production of beef calves. The ranch is located in Macuspana, Tabasco, Mexico, at 17° 45' 17" north latitude and 92° 33' 32" west length, at 10 masl, with tropical climate, mean annual temperature 26.4 °C and annual precipitation 3,186 mm (INEGI, 2018).

### Characteristics of experimental animals

A total of 120 early postpartum (1-5 days), lactating and multiparous (2-5 calvings) Simbrah cows were selected. Body condition score of the cows ranged from 2 to 4 in a scale of 5 points (Pullan, 1978), and body weight averaged  $468.5 \pm 13.2$  kg. The cows were treated against internal parasites (Levamisol, Lab. Genfar, 1 mL/20 kg live weight via IM) and external parasites (Baytico® Pour-on 1 %, Lab. Bayer, 10 mL/100 kg live weight), were given vitamins (Vigantol® ADE, Lab. Bayer, 5 mL via IM), and were vaccinated against rabies (Nobivac® Rabia, Lab. MSD), anthrax (vacuna anticarbonosa, Lab. MSD) and blackleg (Bacterina triple C.E.S.®, Lab. MSD).

### Experimental design

Cows were randomly distributed in a 2 x 2 factorial design. On Day 0 (zero) of the study, cows were assigned to one of the following treatments: T1) Continuous suckling with feed supplementation (CCC; n=30), T2) Restricted suckling without feed supplementation (RSC; n=30), T3) Restricted suckling with feed supplementation (RCC, n=30) and T4)

estudio fue determinar el efecto del amamantamiento restringido y la complementación alimenticia sobre el desarrollo folicular posparto y la concentración sérica de progesterona y estradiol en vacas Simbrah.

## Material y Métodos

Todos los procedimientos realizados durante este experimento estuvieron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 sobre las Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y experimentales.

### Ubicación geográfica de la unidad de producción

El estudio se realizó en la unidad de producción pecuaria San José, que se dedica a la producción de becerros para abasto, ubicada en Macuspana, Tabasco, México, localizada a 17° 45' 17" latitud Norte y 92° 33' 32" longitud Oeste, a una altura de 10 masl, con clima tropical, temperatura media anual de 26.4 °C y precipitación anual de 3,186 mm (INEGI, 2018).

### Características de las hembras bovinas experimentales

Se seleccionaron 120 hembras Simbrah recién paridas (1-5 días), lactantes, multíparas (2 a 5 partos), con condición corporal de 2 a 4 en escala de 1 a 5 puntos (Pullan, 1978) y peso promedio de  $468.5 \pm 13.2$  kg. Las vacas fueron tratadas contra parásitos internos (Levamisol, Lab. Genfar, dosis 1 mL/20 kg de peso vía IM) y externos (Baytico® Pour-on 1 %, Lab. Bayer, dosis 10 mL/100 kg de peso vía tópica), recibieron vitaminas (Vigantol® ADE, Lab. Bayer, dosis 5 mL vía IM), y fueron vacunadas contra derriengue (Nobivac® Rabia, Lab. MSD), fiebre carbonosa (vacuna anticarbonosa, Lab. MSD) y carbón sintomático (Bacterina triple C.E.S.®, Lab. MSD).

### Diseño experimental

Las vacas se distribuyeron aleatoriamente en un diseño factorial 2 x 2. El Día 0 (cero) del experimento las vacas fueron asignadas a uno de los siguientes tratamientos: T1) Amamantamiento continuo con complementación alimenticia (CCC; n=30), T2) Amamantamiento restringido sin complementación alimenticia (RSC; n=30), T3) Amamantamiento restringido con complementación alimenticia (RCC, n=30) y T4) Amamantamiento continuo sin complementación alimenticia (CSC, n=30). Todas las vacas

Continuous suckling without feed supplementation (CSC, n=30). All the cows were managed under rotational grazing in 150 ha divided in 30 paddocks of 5 ha each, sown with MG5 (*Brachiaria brizantha*, 12 % crude protein [CP]) and humidicola (*Brachiaria humidicola*, 7.5 % CP) grass, and all cows received *ad libitum* a supplemental source of salt and minerals (8 % phosphorus) from their inclusion in the study (Day 0) until diagnosed as pregnant. Cows from treatments T1 and T3 received additionally a commercial feed supplement (19 % CP and 73.26 % TDN) at 4 kg/cow/day from Day 0 until ovulation Day. Cows belonging to each treatment group were kept together and separated from those from the other groups.

#### Suckling type

Continuous suckling (T1 and T4) consisted on the calf staying with its mother since birth until weaning, at 210 days old. Restricted suckling (T2 and T3) consisted on the calf staying with its mother since birth until 15 days old; then, the calf was separated from its mother and was allowed to suckle once a day in the morning (0700 to 0800 h) until weaning, at 105 days old.

### Study variables

#### Follicular dynamics and ovulation

To determine the follicular dynamics, the ovarian structures were examined through transrectal ultrasonography (US, portable ultrasound Mindray model DP-10 VET, with 7.0 MHz transrectal transducer) twice a week since Day 0 (start of the study) until detection of ovulation, which was considered as indicative of resumption of estrus cyclicity. To characterize the changes in the ovarian structures, in each US evaluation all the follicles present were measured, and the presence and size of a dominant follicle (DF) were determined. In the cows that had a 12-15 mm diameter DF that had disappeared in the following US evaluation, then further US evaluations were conducted on Days 7 and 14 after the DF disappearance to confirm ovulation through the detection of a corpus luteum (CL). If a CL was not found, US evaluations were resumed and conducted twice a week until finding one. To monitor the follicular dynamics, the transrectal transducer from the US apparatus was inserted through the rectum and placed along the dorsal surface of each uterine

se mantuvieron en pastoreo rotacional en 150 ha divididas en 30 potreros de 5 ha, sembrados con pasto MG5 (*Brachiaria Brizanta*, 12 % proteína cruda [CP]) y humidicola (*Brachiaria humidicola*, 7.5 % CP), y todas recibieron *ad libitum*, una fuente suplementaria de sales minerales (8 % de fósforo) desde su inclusión en el estudio (Día 0) hasta que se le diagnosticó como gestantes. Las vacas de los tratamientos T1 y T3 recibieron además alimento balanceado comercial (19 % CP y 73.26 % TND) a razón de 4 kg/animal/día desde el Día 0 hasta el Día de la ovulación. Las vacas de cada tratamiento se mantuvieron juntas en el potrero y separadas de las vacas de los demás grupos.

#### Tipo de amamantamiento

El amamantamiento continuo (T1 y T4) consistió en que el becerro permaneció con la madre desde su nacimiento hasta su destete, a los 210 días de vida. El amamantamiento restringido (T2 y T3) consistió en que el becerro permaneció con la madre desde que nació hasta los 15 días de vida, después se separó de ella y se le permitió mamar una vez al día por la mañana (0700 a 0800 h) hasta su destete (105 días de vida).

### Variables de estudio

#### Dinámica folicular y ovulación

Para determinar la dinámica folicular, las estructuras ováricas se examinaron por ultrasonografía transrectal (US, ultrasonido portátil Mindray modelo DP-10 VET, con transductor transrectal de 7.0 MHz) dos veces por semana a partir del Día 0 (inicio del estudio) hasta que se detectó la ovulación, lo que se consideró como indicativo del reinicio de la ciclicidad. Para caracterizar los cambios en las estructuras ováricas, en cada US se midieron los folículos presentes y se determinó la talla folicular y la presencia de un folículo dominante (DF). A las vacas que presentaron DF de 12 a 15 mm de diámetro, mismo que a la siguiente US no se observó, se les realizó US los Días 7 y 14 después de la desaparición del DF para confirmar la ovulación mediante la detección de cuerpo lúteo (CL). En caso de no encontrar un CL se reiniciaron las US y se realizaron dos veces por semana hasta encontrar un CL. Para monitorear la dinámica folicular, el transductor transrectal del aparato de US se insertó por vía rectal y se colocó a lo largo de la superficie dorsal del cuerno del útero, moviéndolo hacia los lados para examinar los ovarios; el tracto reproductivo no se manipuló directamente antes o durante la US (Ginther *et al.*, 1989; Taylor *et al.*, 1993).

horn, moving it sidewise to examine the ovaries; the reproductive tract was not directly manipulated before or during the US evaluation (Ginther *et al.*, 1989; Taylor *et al.*, 1993).

#### Blood sampling and determination of serum concentrations of progesterone and estradiol 17- $\beta$ ( $E_2$ )

In all cows, serum progesterone ( $P_4$ ) concentrations were determined to confirm the functionality of the CL ( $\geq 1$  ng/mL  $P_4$  in two consecutive samplings; Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2015), and serum estradiol 17- $\beta$  ( $E_2$ ) concentrations were measured as indicative of follicular activity. Blood samplings were conducted on the same days as the US evaluations. Blood was drawn from the coccygeal vein with 21 G x 38 mm sterile needles into 6 mL Vacutainer® tubes with no anticoagulant. Blood samples were centrifuged at 2500 rpm for 10 min within 4 hours after collection to obtain the serum, which was separated into aliquots and stored at -20 °C until hormone determination. Concentrations of  $P_4$  (ng/mL) and  $E_2$  (pg/mL) were measured through solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using commercial kits (Progesterone EIA-1561 and Estradiol EIA-2693, DRG Diagnostics, Germany). The progesterone assay showed cross-reactivity with progesterone (100 %); the range of the curve was 0.30-40 ng/mL, the assay sensitivity was 0.40 ng/mL and the inter assay coefficient of variation was 6.63 %. The estradiol assay showed cross-reactivity with estradiol-17 $\beta$  (100 %), estrone (6.86 %) and estriol (2.27 %); the range of the curve was 25-2000 pg/mL, the assay sensitivity was 50 pg/mL and the inter-assay coefficient of variation was 7.78 %. The ELISA microplates were read at 450 nm (ELISA reader HLAB, model HReader1, HLab supply LTD).

#### Statistical analysis

The variables of follicular activity and serum  $P_4$  and  $E_2$  concentrations were analyzed using a univariate repeated measures ANOVA. Ovulation rate was analyzed through the Chi-square test. The probability of ovulation by treatment was analyzed through the Kaplan-Meier survival analysis. To know the effect of treatment on ovulation rate, follicular activity and serum  $P_4$  and  $E_2$  concentrations a logistic regression was used. All the statistical tests were from the SPSS (Statistical Package for Social Sciences V. 15).

#### Toma de muestras de sangre y determinación sérica de progesterona y 17- $\beta$ estradiol

En todas las vacas se determinó la concentración sérica de progesterona ( $P_4$ ) para confirmar la funcionalidad del CL ( $\geq 1$  ng/mL  $P_4$  en dos muestreos consecutivos; Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2015), y la concentración sérica de 17- $\beta$  estradiol ( $E_2$ ) como indicativo de la funcionalidad folicular. Los muestreos sanguíneos se realizaron en los mismos días de las US, mediante punción de la vena coccígea con aguja calibre 21G x 38 mm y tubos Vacutainer® de 6 mL sin anticoagulante. Las muestras se centrifugaron a 2500 rpm por 10 min en un tiempo no mayor a 4 h después de ser tomadas para obtener el suero, mismo que se separó en alícuotas que se congelaron a -20 °C hasta la determinación hormonal. Las concentraciones de  $P_4$  (ng/mL) y  $E_2$  (pg/mL) se midieron mediante enzimoimmunoensayo de fase sólida (ELISA) usando kits comerciales (Progesterone EIA-1561 y Estradiol EIA-2693, DRG Diagnostics, Germany). El ensayo de progesterona mostró reacción cruzada con progesterona (100 %); el rango de la curva fue 0.30-40 ng/mL, la sensibilidad del ensayo 0.40 ng/mL y el coeficiente de variación interensayo 6.63 %. El ensayo de estradiol mostró reacción cruzada con 17 $\beta$ -estradiol (100 %), estrona (6.86 %) y estriol (2.27 %); el rango de la curva fue 25-2000 pg/mL, la sensibilidad del ensayo 50 pg/mL y el coeficiente de variación interensayo 7.78 %. La lectura de las placas de ELISA se hizo a 450 nm en un lector de ELISA (HLAB, modelo HReader1, HLab supply LTD).

#### Análisis estadístico

Las variables de actividad folicular y concentración sérica de  $P_4$  y  $E_2$  se analizaron con ANOVA univariado de medidas repetidas. La tasa de ovulación se analizó con la prueba de Chi-cuadrada. La probabilidad de ovulación según el tratamiento se evaluó con el análisis de sobrevivencia de Kaplan-Meier. Para conocer el efecto del tratamiento sobre la tasa de ovulación, la actividad folicular y concentración sérica de  $P_4$  y  $E_2$  se realizó regresión logística. Todas estas pruebas se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences V. 15).

#### Resultados y Discusión

Se encontró mayor número de folículos y diámetro folicular en las vacas de T3, comparado con las vacas de T1, T2 y T4 ( $p < 0.05$ ) (Tabla 1).

**Table 1.**  
**Number of ovarian follicles, follicle diameter and ovulation rate (mean  $\pm$  SD) in Simbrah cows receiving or not feed supplementation, managed under continuous or restricted suckling.**

**Tabla 1.**  
**Número de folículos ováricos, diámetro folicular y tasa de ovulación (media  $\pm$  SD) en vacas Simbrah que recibieron o no complementación alimenticia y que fueron manejadas bajo amamantamiento continuo o restringido.**

Variable	Treatment			
	T1 (CCC) n=30	T2 (RSC) n=30	T3 (RCC) n=30	T4 (CSC) n=30
No. of follicles	9.0 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>	11.0 $\pm$ 2.0 <sup>b</sup>	13.0 $\pm$ 2.0 <sup>c</sup>	7.0 $\pm$ 1.0 <sup>d</sup>
Follicle diameter (mm)	10.7 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	12.6 $\pm$ 1.5 <sup>b</sup>	14.6 $\pm$ 2.3 <sup>c</sup>	8.0 $\pm$ 0.1 <sup>d</sup>
Ovulation rate (%)	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Different superscripts between columns by row indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ).

T1= Continuous suckling with feed supplementation. T2= Restricted suckling without feed supplementation. T3= Restricted suckling with feed supplementation. T4= Continuous suckling without feed supplementation.

<sup>a,b,c,d</sup> Diferentes literales entre columnas de la misma fila indican diferencia estadística ( $p < 0.05$ ).

T1= Amamantamiento continuo con complementación alimenticia. T2= Amamantamiento restringido sin complementación alimenticia. T3= Amamantamiento restringido con complementación alimenticia. T4= Amamantamiento continuo sin complementación alimenticia.

## Results and Discussion

A greater number of follicles and greater follicular diameter were found in cows from T3, compared to cows from T1, T2 and T4 ( $p < 0.05$ ) (Table 1).

The results from this study indicate that restricted suckling, under the conditions of this experiment, did improve the reproductive efficiency of cattle. Cows from T2 (restricted suckling) had greater number of follicles, follicle diameter and serum  $P_4$  and  $E_2$  concentrations, in comparison with cows from T1 and T4 (continuous suckling). In addition, the effect of restricted suckling during early postpartum was potentiated when combined with feed supplementation; this was evident in the greater number of follicles, follicle diameter and serum  $P_4$  and  $E_2$  concentrations in cows from T3, in comparison with cows from T1, T2 and T4. Even though ovulation rate was 100 % in all the treatments (Table 1) because the study ended when all cows had ovulated, the Kaplan-Meier survival analysis indicated different time of ovulation by treatment, with higher probability of ovulation for cows from T3 than from the other treatments ( $p < 0.05$ ) (Figure 1).

Blood serum concentrations of  $P_4$  (ng/mL) and  $E_2$  (pg/mL) were higher in cows from T3 than in cows from the other groups (Table 2).

Los resultados de este estudio indican que el amamantamiento controlado, en las condiciones en las que se desarrolló este experimento, sí mejoró la eficiencia reproductiva de las vacas. Las vacas del T2 (amamantamiento restringido) tuvieron mayor número de folículos, diámetro folicular y concentraciones séricas de  $P_4$  y  $E_2$  en comparación con las vacas de T1 y T4 (amamantamiento continuo). También se observó que el efecto del amamantamiento controlado se vio potencializado cuando se combinó con complementación alimenticia en el posparto temprano; esto se evidenció con el mayor número de folículos, diámetro folicular y concentraciones séricas de  $P_4$  y  $E_2$  en las vacas del T3 comparadas con las vacas de T1, T2 y T4. Aunque la tasa de ovulación fue 100 % en todos los tratamientos (Tabla 1) porque el estudio terminó una vez que todas las vacas habían ovulado, el análisis de sobrevivencia de Kaplan-Meier indicó que la ovulación se presentó en diferente tiempo por tratamiento, con mayor probabilidad de ovulación en vacas del T3 que en las de los demás tratamientos ( $p < 0.05$ ) (Figura 1).

Por otra parte, las concentraciones séricas de  $P_4$  (ng/mL) y  $E_2$  (pg/mL) fueron mayores en las vacas del T3 que en las de T1, T2 y T4 (Tabla 2).

Si los tratamientos se analizan por separado, el amamantamiento restringido combinado con la complementación alimenticia de las vacas (T3) podría ser considerado como

**Table 2.**  
**Serum progesterone and estradiol concentrations (mean  $\pm$  SD) in Simbrah cows receiving or not feed supplementation, managed under continuous or restricted suckling.**

**Tabla 2.**  
**Concentraciones séricas de progesterona y estradiol (media  $\pm$  SD) en vacas Simbrah que recibieron o no complementación alimenticia y que fueron manejadas bajo amamantamiento continuo o restringido.**

Variable	Treatment			
	T1 (CCC) n=30	T2 (RSC) n=30	T3 (RCC) n=30	T4 (CSC) n=30
Progesterone (ng/ml)	6.4 $\pm$ 2.1 <sup>a</sup>	7.6 $\pm$ 1.6 <sup>b</sup>	8.4 $\pm$ 1.1 <sup>c</sup>	5.8 $\pm$ 1.7 <sup>d</sup>
Estradiol (pg/ml)	50.4 $\pm$ 10.2 <sup>a</sup>	63.6 $\pm$ 12.7 <sup>b</sup>	70.7 $\pm$ 16.3 <sup>c</sup>	37.5 $\pm$ 7.5 <sup>d</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Different superscripts between columns by row indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ).

T1= Continuous suckling with feed supplementation. T2= Restricted suckling without feed supplementation. T3= Restricted suckling with feed supplementation. T4= Continuous suckling without feed supplementation.

<sup>a,b,c,d</sup> Diferentes literales entre columnas de la misma fila indican diferencia estadística ( $p < 0.05$ ).

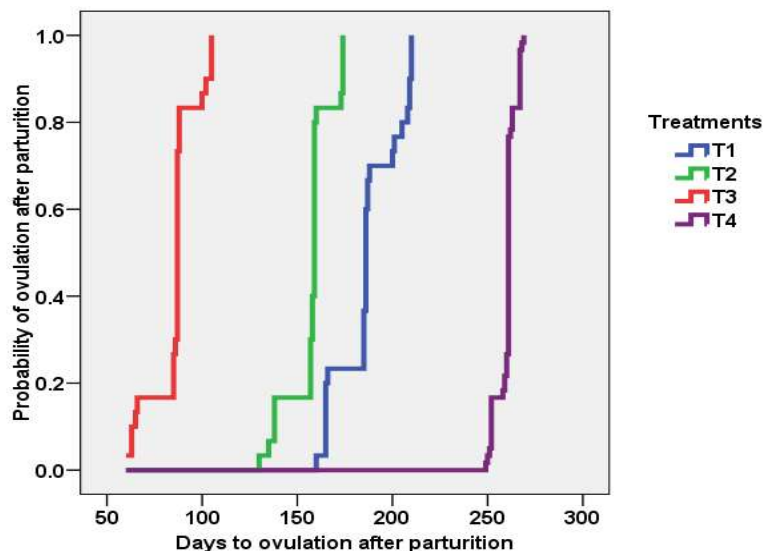
T1= Amamantamiento continuo con complementación alimenticia. T2= Amamantamiento restringido sin complementación alimenticia. T3= Amamantamiento restringido con complementación alimenticia. T4= Amamantamiento continuo sin complementación alimenticia.

If treatments are analyzed separately, restricted suckling combined with feed supplementation of the cows (T3) could be considered as the most convenient from a productive point of view. However, if it were not possible to implement restricted suckling in combination with feed supplementation, restricted suckling alone (T2) improves production and reproduction of cows, contrary to offering feed supplementation alone without separating the calf from the cow (T1), or neither separating the calf from the cow nor offering the cow feed supplementation (T4). To this respect, previous studies in cows (Arthington & Kalmbacher, 2003; Arthington & Minton, 2004; Schultz *et al.*, 2005; Galindo-González *et al.*, 2005; Galindo-González *et al.*, 2007; Quintans *et al.*, 2009; Vittone *et al.*, 2011; Martins *et al.*, 2012; Waterman *et al.*, 2012; Crowe *et al.*, 2014; Lopes-Silva *et al.*, 2015; Mondragón *et al.*, 2016; Diskin & Kenny, 2016) have demonstrated that early weaning (EW), compared with continuous suckling (CS), improves weight gain (EW 491  $\pm$  5.0 vs. CS 452  $\pm$  5.0 kg), pregnancy rate (EW 95 vs. CS 65 %), ovulation rate (EW 100 vs. CS 75 %), body condition score (1-9 scale) (EW 6.34  $\pm$  0.07 vs. CS 4.75  $\pm$  0.07), number of follicles (EW 18  $\pm$  2 vs. CS 12  $\pm$  2), follicle diameter (EW 12.0  $\pm$  0.14 vs. CS 8.0  $\pm$  0.10 mm), serum concentrations of P<sub>4</sub> (EW 5.0  $\pm$  2.0 vs. CS 3.0  $\pm$  1.0 ng/mL) and E<sub>2</sub> (EW 110.0  $\pm$  25.0 vs. CS 30.0  $\pm$  15.0 pg/mL) and shortens the postpartum anestrus period (EW 90  $\pm$  10.0 vs. CS 134  $\pm$  16.0 days).

el más conveniente desde el punto de vista productivo. Por otro lado, si no fuera posible implementar el amamantamiento controlado junto con la complementación alimenticia, el amamantamiento controlado (T2) por sí solo ofrece mejoras reproductivas y productivas de las vacas, contrario a dar complementación alimenticia a la vaca sin separar el becerro (T1), o no separar al becerro de la madre ni ofrecerle a la vaca complementación alimenticia (T4). En este sentido, estudios previos en vacas (Arthington & Kalmbacher, 2003; Arthington & Minton, 2004; Schultz *et al.*, 2005; Galindo-González *et al.*, 2007; Quintans *et al.*, 2009; Vittone *et al.*, 2011; Martins *et al.*, 2012; Waterman *et al.*, 2012; Crowe *et al.*, 2014; Lopes-Silva *et al.*, 2015; Mondragón *et al.*, 2016; Diskin & Kenny, 2016) han demostrado que el destete temprano (EW), comparado con el amamantamiento continuo (CS), mejora la ganancia de peso (EW 491  $\pm$  5.0 vs. CS 452  $\pm$  5.0 kg), la tasa de gestación (EW 95.0 vs. CS 65.0 %), la tasa de ovulación (EW 100 vs. CS 75 %), la condición corporal (escala de 1-9) (EW 6.34  $\pm$  0.07 vs. CS 4.75  $\pm$  0.07), el número de folículos (EW 18  $\pm$  2 vs. CS 12  $\pm$  2), el diámetro folicular (EW 12.0  $\pm$  0.14 vs. CS 8.0  $\pm$  0.10 mm), la concentración sérica de P<sub>4</sub> (EW 5.0  $\pm$  2.0 vs. CS 3.0  $\pm$  1.0 ng/mL) y de E<sub>2</sub> (EW 110.0  $\pm$  25.0 vs. CS 30.0  $\pm$  15.0 pg/mL) y reduce el periodo de anestro posparto (EW 90  $\pm$  10.0 vs. CS 134  $\pm$  16.0 días).

En ganado cárnico criado bajo condiciones tropicales, el amamantamiento es uno de los principales factores que





**Figure 1. Kaplan-Meier survival analysis indicating the probability of ovulation after parturition by treatment.**

T1 = Continuous suckling with feed supplementation. T2 = Restricted suckling without feed supplementation. T3 = Restricted suckling with feed supplementation. T4 = Continuous suckling without feed supplementation.

**Figura 1. Análisis de sobrevivencia de Kaplan-Meier que indica la probabilidad de ovulación después del parto.**

T1= Amamantamiento continuo con complementación alimenticia. T2= Amamantamiento restringido sin complementación alimenticia. T3= Amamantamiento restringido con complementación alimenticia. T4= Amamantamiento continuo sin complementación alimenticia.

In beef cattle raised under tropical conditions, suckling is one of the main factors affecting the postpartum anestrus period (Montiel & Ahuja, 2005; Quintans *et al.*, 2010; Waterman *et al.*, 2012). Early weaning or controlled suckling have been recommended as management strategies aimed to improve reproductive efficiency (Galina *et al.*, 2001; Montiel & Ahuja, 2005). This was supported by the results from the present study, as restricted suckling was reflected as productive and reproductive improvements. However, the precise mechanism by which suckling alters the reproductive function is not completely understood yet (Montiel & Ahuja, 2005; Quintans *et al.*, 2009; Mondragón *et al.*, 2016). Following a normal calving (with no complications), an average of 30 days are needed for complete uterine involution and resumption of activity of the hypothalamic-hypophyseal-ovarian axis for the synthesis and release of gonadotropic hormones (Diskin & Kenny, 2016).

At calving, concentrations of  $P_4$  and  $E_2$  decrease to basal levels ( $\leq 0.5$  ng/mL and  $\leq 2$  pg/mL, respectively), inhibiting

afectan el periodo de anestro posparto (Montiel & Ahuja, 2005; Quintans *et al.*, 2010; Waterman *et al.*, 2012). El destete precoz o el amamantamiento controlado han sido recomendados como manejos enfocados en mejorar la eficiencia reproductiva (Galina *et al.*, 2001; Montiel & Ahuja, 2005). Esto fue confirmado con los resultados del presente estudio, dado que el amamantamiento controlado se reflejó en mejoras productivas y reproductivas. Sin embargo, el mecanismo preciso mediante el cual el amamantamiento altera la función reproductiva no está totalmente comprendido (Montiel & Ahuja, 2005; Quintans *et al.*, 2009; Mondragón *et al.*, 2016). Después de un parto normal (sin complicaciones obstétricas) se requieren alrededor de 30 días para la involución uterina completa y para la restauración de la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-ovarios en lo relativo a la síntesis y liberación de gonadotropinas (Diskin & Kenny, 2016).

Al momento del parto, las concentraciones de  $P_4$  y  $E_2$  se reducen a niveles basales ( $\leq 0.5$  ng/mL y  $\leq 2$  pg/mL, respectivamente), lo que inhibe su retroalimentación negativa (de origen lúteal y placentario) sobre la síntesis de

their negative feedback (from luteal and placental origin) on the synthesis of follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH). In the following days, FSH is synthesized and released into the blood stream, resulting in a transitory increase (around 30 ng/mL 3-5 days after calving); this occurs subsequently at 7-10 day intervals (Crowe *et al.*, 1998, 2014). The first FSH increase stimulates the first surge of follicular growth after parturition, which in general results in the formation of a DF at 7-10 days after calving (Murphy *et al.*, 1990; Savio *et al.*, 1990; Crowe *et al.*, 1993). On the other hand, the recuperation of the FSH reserves in the anterior hypophysis is slow, requiring 2-3 weeks to complete. During this time, circulating concentrations and the frequency of the LH pulse are low, and the first DF that forms does not ovulate. This occurs in all the cows, regardless they are being milked or suckled (Silveira *et al.*, 1993; Griffith & Williams, 1996). Most of beef cows (85 %) are capable to ovulate at 25-35 days after parturition (Crowe *et al.*, 1993; Duffy *et al.*, 2000; Mackey *et al.*, 2000; Crowe *et al.*, 2014). However, this does not occur, because suckling prevents hypothalamic secretion of gonadotropin releasing hormone (GnRH), which is necessary for the synthesis of LH; this negative effect reduces the follicle development and its competence to ovulate a viable ovum (Quintans *et al.*, 2009; Crowe *et al.*, 2014; Mondragón *et al.*, 2016).

In theory, this process occurs through the signal generated when the calf suckles and activates the opioid-producing neurons that have a neural association with the GnRH-producing neurons; this has a blocking effect, as it inhibits GnRH release and in consequence LH secretion (Pérez-Hernández *et al.*, 2001; Crowe, 2008; Crowe *et al.*, 2014). The effect of suckling becomes less potent as the postpartum period advances; namely, the mechanism that prolongs postpartum inactivity can be attributed to the cow-calf bond, as it has been observed that a cow that suckles its own calf maintains the pattern of suppression of LH release; on the contrary, if the cow suckles an unrelated calf, the LH pulses are reestablished normally like when ovulation is soon to occur (Williams *et al.*, 1996; Stevenson *et al.*, 1997). This can be explained through the theory that suckling increases the sensibility of the hypothalamus to the negative feedback of the estradiol produced by the ovary, resulting in low LH secretion; as the postpartum period advances, the GnRH pulse generator becomes less sensitive to the suckling stimulus, avoiding the effects

hormona foliculo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH). En los días siguientes, la FSH es sintetizada y liberada en la circulación periférica, observándose un incremento transitorio (alrededor de 30 ng/mL 3-5 días posparto); esto ocurre subsecuentemente a intervalos de 7 a 10 días (Crowe *et al.*, 1998, 2014). El primer aumento de FSH estimula la primera oleada de crecimiento folicular posparto y generalmente resulta en la formación de un DF de 7 a 10 días después del parto (Murphy *et al.*, 1990; Savio *et al.*, 1990; Crowe *et al.*, 1993). Por otro lado, la recuperación de las reservas de LH en la pituitaria anterior es lenta, y se requieren de 2 a 3 semanas para completarse. Durante este periodo, las concentraciones circulantes y la frecuencia de pulsos de LH son bajas, y este primer DF que se forma no ovula. Esto ocurre en todas las vacas, independientemente de que sean ordeñadas o estén amamantando (Silveira *et al.*, 1993; Griffith & Williams, 1996). La mayoría (85 %) de las vacas de carne son capaces de ovular a los 25 a 35 días después del parto (Crowe *et al.*, 1993; Duffy *et al.*, 2000; Mackey *et al.*, 2000; Crowe *et al.*, 2014). Sin embargo, esto no sucede, dado que el amamantamiento evita la secreción hipotalámica de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), necesaria para la síntesis de la LH; este efecto negativo reduce el desarrollo folicular y su competencia para ovular un ovocito viable (Quintans *et al.*, 2009; Crowe *et al.*, 2014; Mondragón *et al.*, 2016).

Teóricamente, este proceso se da a través de la señal que se genera cuando el becerro se amamanta y activa las neuronas productoras de opioides que poseen asociación neural con las neuronas productoras de GnRH; esto ejerce un bloqueo de manera directa, dado que inhibe la liberación de GnRH y en consecuencia la secreción de LH (Pérez-Hernández *et al.*, 2001; Crowe, 2008; Crowe *et al.*, 2014). El efecto del amamantamiento se vuelve menos potente conforme avanza el periodo posparto; es decir, el mecanismo que prolongada la inactividad posparto puede ser atribuido al vínculo materno que se da con la cría, ya que se ha observado que una vaca que amamanta a su propio becerro mantiene el patrón de supresión en la liberación de LH; por el contrario, si la vaca amamanta a un becerro ajeno, los pulsos de LH se reestablecen de manera normal como cuando se aproxima la ovulación (Williams *et al.*, 1996; Stevenson *et al.*, 1997). Esto se explica, a través de la teoría de que el amamantamiento del becerro incrementa la sensibilidad del hipotálamo a la retroalimentación negativa del estradiol producido por el ovario, resultando en baja secreción de LH; a medida que el periodo posparto transcurre, el generador de pulsos de GnRH se vuelve

of the estradiol negative feedback (García-Winder *et al.*, 1984; Pérez-Hernández *et al.*, 2001; Crowe *et al.*, 2014). This results in increased LH pulsatile secretion, occurrence of a preovulatory LH peak and ovulation (Pérez-Hernández *et al.*, 2001; Crowe, 2008). This can be achieved from day 30 after parturition with the aid of restricted suckling and/or temporary isolation (48 h) of the calf from its dam, resulting in an immediate (2-5 days) increase in LH pulsatile frequency, which stimulates ovulation of the first DF in up to 85 % of cows (Stagg *et al.*, 1998; Sinclair *et al.*, 2002).

Therefore, even though the route through which suckling affects the postpartum anestrus period has not been completely elucidated yet, the evidence indicates that during the postpartum period cows experience three physiological stages before resuming their reproductive functions: 1) uterine involution, which takes  $\geq 30$  days; 2) restoration of the hypothalamic-hypophyseal-ovarian axis regarding the synthesis and release mainly of GnRH and LH, which occurs at 25-35 days after parturition; and 3) inhibition or decrease of the hypothalamic sensitivity and the maternal bond in order to restore the gonadotropin release, which can be induced through controlled suckling and/or temporary separation of the calf starting at 30 days after parturition.

In this study it was also observed that, independently of the effect of suckling on the resumption of the postpartum ovarian activity, the nutritional factor is also present; this was seen in cows from T3 compared to T1, T2 and T4. The resumption of the postpartum reproductive activity is also influenced by the nutritional status of the cows (Wettemann *et al.*, 2003; Waterman *et al.*, 2012; Diskin & Kenny, 2016). Inadequate nutrient intake after parturition will cause a severe decrease in the cow's body fat reserves, affecting its reproductive performance by increasing the postpartum anestrus period and decreasing pregnancy rate (Diskin & Kenny, 2014, 2016).

From a biological perspective, in the early postpartum mammals favor lactation over fertility, as nutrient use is prioritized (Lucy, 2003). Because nutrients can be scarce in the first stage of lactation, the lactating cow utilizes its limited resources preferentially to assure the survival of the newly born calf, prioritizing the maintenance of the calf over the production of viable

menos sensible al estímulo del amamantamiento, con lo que evita los efectos de retroalimentación negativa del estradiol (García-Winder *et al.*, 1984; Pérez-Hernández *et al.*, 2001; Crowe *et al.*, 2014). Esto resulta en incremento en secreción pulsátil de LH, surgimiento del pico preovulatorio de LH y ovulación (Pérez-Hernández *et al.*, 2001; Crowe, 2008). Esto se puede lograr a partir del día 30 posparto mediante el amamantamiento restringido y/o aislamiento temporal (48 h) del becerro de su madre, resultando en un inmediato (2-5 días) incremento de la frecuencia pulsátil de LH, lo que estimula la ovulación del primer DF hasta en 85 % de las vacas (Stagg *et al.*, 1998; Sinclair *et al.*, 2002).

Por lo tanto, aunque hasta el momento no se haya esclarecido la vía mediante la cual el amamantamiento afecta el anestro posparto, la evidencia presentada indica que durante el posparto la vaca pasa por tres etapas fisiológicas antes de poder reiniciar sus funciones reproductivas: 1) involución uterina, que requiere  $\geq 30$  días; 2) restauración del eje hipotálamo-hipófisis-ovarios en lo relativo a la síntesis y liberación principalmente de GnRH y LH, lo cual ocurre entre 25 a 35 días posparto; y 3) inhibición y/o disminución de la sensibilidad a nivel hipotalámico y del vínculo materno para restaurar la liberación de hormonas gonadotrópicas, que se puede inducir mediante el amamantamiento controlado y/o separación temporal del becerro a partir del día 30 posparto.

En este estudio, también se observó que, independientemente del efecto que el amamantamiento ejerce sobre el reinicio de la actividad reproductiva posparto, también está presente el factor nutricional; esto fue observado en vacas del T3 en comparación con vacas del T1, T2 y T4. El reinicio de la actividad reproductiva posparto también se ve influenciado por el estatus nutricional que mantienen las vacas (Wettemann *et al.*, 2003; Waterman *et al.*, 2012; Diskin & Kenny, 2016). Si el consumo de nutrientes después del parto es inadecuado, ocasionará una marcada disminución en las reservas corporales de grasa de la vaca, afectando su comportamiento reproductivo al incrementar el periodo de anestro posparto y disminuir la tasa de gestación (Diskin & Kenny, 2014, 2016).

Desde un punto de vista biológico, en el postparto temprano los mamíferos favorecen la lactancia sobre la fertilidad, dado que el uso de nutrientes se prioriza (Lucy, 2003). Como en la primera etapa de la lactancia los nutrientes pueden resultar escasos, la hembra lactante invierte preferencialmente sus limitados recursos en la supervivencia del neonato, priorizando el sostenimiento de la cría sobre la producción de ovocitos viables, que de ser fertilizados y el embrión resultante implantado, la vaca

oocytes, because if one of these were fertilized and the resultant embryo implanted, the cow would have to deal with the physiological cost of establishing a new pregnancy (Wettemann *et al.*, 2003; Granja *et al.*, 2012). In other words, reproductive functions such as estrus cyclicity and establishment of a new pregnancy have low priority within the scale of nutrient utilization in the early lactating cow, and such functions will be activated only when the demand of nutrients for lactation, maintenance, growth and body reserves has been met (Wettemann *et al.*, 2003; Granja *et al.*, 2012; Watanabe *et al.*, 2013).

Thus, duration of postpartum anestrus is initially due to the effect of suckling, at least during the first month after parturition. Later, the nutritional status of the cow will be responsible for the reproductive activity; therefore, a satisfactory reproductive performance will be obtained when cows have an optimal nutritional status (Wettemann *et al.*, 2003; Granja *et al.*, 2012; Diskin & Kenny, 2016). Nonetheless, the mechanism by which nutritional factors act on reproduction has not been determined yet (Wettemann *et al.*, 2003; Diskin & Kenny, 2016). In cows induced to nutritional anestrus there is a decrease in plasma LH concentrations and an inhibition in the frequency of LH pulses as a result of hypothalamic reduction of GnRH secretion (Crowe *et al.*, 2014; Diskin & Kenny, 2016). This has been attributed to an enhanced sensitivity of the hypothalamus to the negative feedback of estradiol from the ovary during feed restriction, which generates a decrease in the pulsatile GnRH and LH release (Richards *et al.*, 1991; Crowe *et al.*, 2014).

On the other hand, cows with food restriction release more LH in response to the intramuscular administration of GnRH, in comparison with cows in a moderate or high nutritional plane (Whisnant *et al.*, 1985; Rasby *et al.*, 1991). This suggests that the decrease or suppression in LH secretion in cows with food restriction does not result from lack of LH in the anterior hypophysis, but from the decrease in GnRH release. Although this process is not clear yet, it is assumed that there are metabolic factors that modulate the function of the GnRH pulse generator and the response of the hypophysis to it (Lents *et al.*, 2008; Crowe *et al.*, 2014; Diskin & Kenny, 2016). Different hypothesis try to explain how postpartum anestrus, follicle development and ovulation can be regulated by chemical substances of which blood concentrations vary according to the nutritional status of

tendría que cubrir el costo fisiológico de establecer una nueva gestación (Wettemann *et al.*, 2003; Granja *et al.*, 2012). Es decir, las funciones reproductivas como la ciclicidad estral y el establecimiento de una nueva gestación tienen escasa prioridad dentro de la escala de utilización de nutrientes en la vaca al inicio de la lactancia, y estas funciones solo serán activadas cuando la demanda de nutrientes para lactación, mantenimiento, crecimiento y reservas corporales haya sido satisfecha (Wettemann *et al.*, 2003; Granja *et al.*, 2012; Watanabe *et al.*, 2013).

Así, la duración del anestro posparto inicialmente se debe al efecto del amamantamiento, al menos durante el primer mes posparto. Posteriormente, el estatus nutricional que mantenga la vaca será el responsable de la actividad reproductiva; por lo tanto, se puede predecir un desempeño reproductivo satisfactorio si las vacas tienen un estatus nutricional adecuado (Wettemann *et al.*, 2003; Granja *et al.*, 2012; Diskin & Kenny, 2016). Sin embargo, el mecanismo por el cual los factores nutricionales actúan sobre la reproducción es un tema complejo y no ha sido bien determinado (Wettemann *et al.*, 2003; Diskin & Kenny, 2016). Se ha reportado que en vacas inducidas a anestro nutricional se presenta disminución en la concentración plasmática de LH e inhibición en la frecuencia de pulsos de LH como resultado de la reducción en la secreción de GnRH a nivel hipotalámico (Crowe *et al.*, 2014; Diskin & Kenny, 2016). Esto se ha atribuido a una sensibilización aumentada del hipotálamo a la retroalimentación negativa del estradiol producido por el ovario durante la restricción alimenticia, que genera disminución en la liberación pulsátil de GnRH y LH (Richards *et al.*, 1991; Crowe *et al.*, 2014).

Por otro lado, se ha reportado que vacas con restricción alimenticia liberan más LH en respuesta a una inyección de GnRH comparadas con vacas en un plano nutricional moderado o alto (Whisnant *et al.*, 1985; Rasby *et al.*, 1991). Esto sugiere que la disminución o supresión en la secreción de LH en vacas con restricción alimenticia no es debida a la falta de LH en la hipófisis anterior, sino a la disminución en la liberación de GnRH. Sin quedar claro cómo se genera este proceso, se presume que hay factores a nivel metabólico que modulan la función del generador del pulso de GnRH y la respuesta de la hipófisis a ésta (Lents *et al.*, 2008; Crowe *et al.*, 2014; Diskin & Kenny, 2016). Existen diferentes hipótesis que tratan de explicar cómo el anestro posparto, el desarrollo folicular y la ovulación pueden estar reguladas por sustancias químicas cuya concentración sanguínea varía según el estado nutricional del animal (BC

the animal (body condition or body fat reserves) and that act simultaneously as metabolic indicators to several sites of the hypothalamus-hypophysis-ovaries axis.

Some of these metabolic indicators are leptin (Ciccioli *et al.*, 2003; Zieba *et al.*, 2005), the insuline-like growth factor (IGF-I) (Richards *et al.*, 1991; Diskin *et al.*, 2003) and the non-esterified fatty acids (NEFA) (Salas *et al.*, 2003; Wettemann *et al.*, 2003). Some functions have been attributed to these indicators, such as those related to the control of the follicle development or the postpartum gonadotropin release (Funston, 2004; Lents *et al.*, 2008), and they are likely important mediators between the effects of food intake and energy balance in cattle. Thus, serum levels of these hormones and growth factors that regulate such functions and their performance are affected by changes in body weight or in the nutritional status of the cows during the postpartum period (Diskin *et al.*, 2003; Barb & Kraeling, 2004).

Therefore, it could be assumed that the duration of the postpartum anestrus is influenced or has interaction with several factors and/or physiological stages that must be overcome and/or manipulated in order to resume the reproductive functions: 1) uterine involution; 2) restoration of the hypothalamus-hypophysis-ovaries axis; 3) inhibition and/or decrease of the hypothalamic sensitivity and the maternal bond to restore the release of gonadotropins, and 4) maintenance of an adequate nutritional plane postpartum to send the body the metabolic signal that the conditions necessary to resume the reproductive activity are present.

Finally, the results from the present study allow to infer that, although the route through which controlled suckling, early weaning and feed supplementation aid to shorten the postpartum anestrus period is not clear, restricted suckling is a useful management practice to increase the reproductive performance of beef cows. Thus, it is necessary to consider the stages that postpartum cows must experience to control anestrus efficiently, and at the same time, keep conducting research focused on clarifying the routes by which temporary or permanent separation of the calf from its dam reactivate the reproductive process in the postpartum cow.

o reserva de grasa corporal) y que actúan simultáneamente como indicadores metabólicos a varios sitios del eje hipotálamo-hipófisis-ovarios.

Entre estos indicadores metabólicos se menciona a la leptina (Ciccioli *et al.*, 2003; Zieba *et al.*, 2005), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I) (Richards *et al.*, 1991; Diskin *et al.*, 2003), y los ácidos grasos no esterificados (NEFA) (Salas *et al.*, 2003; Wettemann *et al.*, 2003). A estos indicadores se les atribuyen funciones en el control del desarrollo folicular o la liberación de gonadotropinas durante el posparto (Funston, 2004; Lents *et al.*, 2008), y es probable que sean importantes mediadores de los efectos de la ingesta alimentaria y el balance energético en los bovinos. Así, los niveles séricos de estas hormonas y factores de crecimiento que regulan dichas funciones y su desempeño se ven afectados por los cambios en el peso corporal o estado nutricional que tienen las vacas en el posparto (Diskin *et al.*, 2003; Barb & Kraeling, 2004).

Por lo tanto, podría asumirse que en la duración del anestro posparto influyen y/o interactúan con varios factores y/o etapas fisiológicas que deben superarse y/o manipularse para reiniciar las funciones reproductivas: 1) involución uterina; 2) restauración del eje hipotálamo-hipófisis-ovarios; 3) inhibición y/o disminución de la sensibilidad a nivel hipotalámico y del vínculo materno para restaurar la liberación de hormonas gonadotrópicas; y 4) mantenimiento de un estatus nutricional posparto adecuado para indicar metabólicamente al cuerpo del animal que existen las condiciones necesarias para reiniciar la actividad reproductiva.

Finalmente, los resultados del presente estudio permiten inferir que, aunque no está clara la vía mediante la cual el amamantamiento controlado, el destete temprano o precoz y la complementación alimenticia ayudan a disminuir el anestro posparto, el amamantamiento controlado es una herramienta de manejo útil para hacer más eficiente el desempeño reproductivo de vacas cárnicas. Así, es necesario considerar las etapas por las cuales debe pasar la vaca durante el posparto para controlar de manera eficiente el anestro, y al mismo tiempo, seguir desarrollando investigación enfocada en develar las vías por las cuales la separación temporal o permanente del becerro de su madre reactivan el proceso reproductivo de las vacas.

## Conclusions

Restricted suckling combined with feed supplementation shortened the postpartum anestrus period in Simbrah cows under tropical conditions by increasing the number and follicle diameter, as well as serum  $P_4$  and  $E_2$  concentrations during the postpartum period.

## Conclusiones

El amamantamiento restringido combinado con complementación alimenticia disminuyó el anestro posparto en vacas Simbrah bajo condiciones tropicales al incrementar el número y diámetro folicular, así como las concentraciones séricas de  $P_4$  y  $E_2$  durante el período posparto.

## References

- Arthington, J.D. & Kalmbacher, R.S. (2003). Effect of early weaning on the performance of three-year-old, first-calf beef heifers and calves reared in the subtropics. *Journal of Animal Science*. 81(5): 1136-1141. <https://doi.org/10.2527/2003.8151120x>
- Arthington, J.D. & Minton, J.E. (2004). The effect of early weaning on feed intake, growth, and postpartum interval in thin, Brahman-crossbred primiparous cows. *The Professional Animal Scientist*. 20: 34-38. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)31269-9](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31269-9)
- Barb, C.R. & Kraeling, R.R. (2004). Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animals. *Animal Reproduction Science*. 82-83: 155-167. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.032>
- Barreiros, T.R.R., Blaschi, W., Santos, G.M.G., Morotti, F., Andrade, E.R., Baruselli, P.S. and Seneda, M.M. (2014). Dynamics of follicular growth and progesterone concentrations in cyclic and anestrous suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with progesterone, equine chorionic gonadotropin, or temporary calf removal. *Theriogenology*. 81: 651-656. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.12.008>
- Bayemi, P.H., Nsongka, M.V., Leinyuy, I., Webb, E.C., Nchadji, J.M., Cavestany, D. and Bryant, M. (2015). Effect of pre-partum feed supplementation on post-partum ovarian activity, milk production and calf growth of small holder dairy cattle in Cameroon. *Tropical Animal Health and Production*. 47: 153-158. <https://doi.org/10.1007/s11250-014-0700-8>
- Blanco, M., Villalba, D., Ripoll, G., Sauerwein, H. and Casasus, I. (2009). Effects of early weaning and breed on calf performance and carcass and meat quality in autumn-born bull calves. *Livestock Science*. 120: 103-105. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.05.003>
- Ciccioli, N.H., Wettemann, R.P., Spicer, L.J., Lents, C.A., White, F.J. and Keisler, D.H. (2003). Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on endocrine function and reproductive performance of beef cows. *Journal of Animal Science*. 81: 3107-3120. <https://doi.org/10.2527/2003.81123107x>
- Crowe, M.A., Goulding, D., Baguisi, A., Boland, M.P. and Roche, J.F. (1993). Induced ovulation of the first postpartum dominant follicle in beef suckler cows using a GnRH analogue. *Journal of Reproduction and Fertility*. 99: 551-555. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0990551>
- Crowe, M.A., Padmanabhan, V., Mihm, M., Beitins, I.Z. and Roche, J.F. (1998). Resumption of follicular waves in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite major changes in steroid and luteinizing hormone concentrations. *Biology of Reproduction*. 58: 1445-1450. <https://doi.org/10.1095/biolreprod58.6.1445>
- Crowe, M.A. (2008). Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. *Reproduction of Domestic Animals*. 43(5): 20-28. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01210.x>
- Crowe, M.A., Diskin, M.G. and Williams, E.J. (2014). Parturition to resumption of ovarian cyclicity: comparative aspects of beef and dairy cows. *Animal*. 8(1): 40-53. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000251>
- Diskin, M.G., Mackey, D.R., Roche, J.F. and Sreenan, J.M. (2003). Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science*. 78: 345-370. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00099-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00099-X)
- Diskin, M.G. & Kenny, D.A. (2014). Optimising reproductive performance of beef cows and replacement heifers. *Animal*. 8(1): 27-39. <https://doi.org/10.1017/S175173111400086X>

- Diskin, M.G. & Kenny, D.A. (2016). Managing the reproductive performance of beef cows. *Theriogenology*. 86: 379-387. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.04.052>
- Duffy, P., Crowe, M.A., Boland, M.P. and Roche, J.F. (2000). Effect of exogenous LH pulses on the fate of the first dominant follicle in postpartum beef cows nursing calves. *Journal of Reproduction and Fertility*. 118: 9-17. <https://doi.org/10.1530/reprod/118.1.9>
- Funston, R.N. (2004). Fat supplementation and reproduction in beef females. *Journal of Animal Science*. 82: E154- E161. [https://doi.org/10.2527/2004.8213\\_supplE154x](https://doi.org/10.2527/2004.8213_supplE154x)
- Galina, C.S., Rubio, I., Basurto, H. and Orihuela, A. (2001). Consequences of different suckling systems for reproductive activity and productivity of cattle in tropical conditions. *Applied Animal Behaviour Science*. 72: 255-262. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(01\)00115-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(01)00115-0)
- Galindo-González, S., Arthington, J.D., Yelich, J.V., Hansen, G.R., Lamb, G.C. and De Vries, A., (2007). Effects of cow parity on voluntary hay intake and performance responses to early weaning of beef calves. *Livestock Science*. 110: 148-153. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2006.10.014>
- García-Winder M., Imakawa J., Day M.L., Zalesky D.D., Kittock R.J. and Kinder J.E. (1984). Effect of suckling and ovariectomy on the control of luteinizing hormone secretion during the postpartum period in beef cows. *Biology of Reproduction*. 31: 771-778. <https://doi.org/10.1095/biolreprod31.4.771>
- Ginther, O.J., Kastelic, J.P. and Knopf, L. (1989). Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Animal Reproduction Science*. 20: 187-200. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(89\)90084-5](https://doi.org/10.1016/0378-4320(89)90084-5)
- Granja, Y.T., Cerquera, G.J. and Fernandez, B.O. (2012). Factores nutricionales que interfieren en el desempeño reproductivo de la hembra bovina. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*. 4(2): 458-472. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4167916>
- Griffith, M.K. & Williams, G.L. (1996). Roles of maternal vision and olfaction in suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion. Expression of maternal selectivity, and lactational performance of beef cows. *Biology of Reproduction*. 54: 761-768. <https://doi.org/10.1095/biolreprod54.4.761>
- Hernández-Martínez, J., Rebollar-Rebollar, S., González-Razo, F.J., Guzmán-Soria, E., Albarrán-Portillo, B. and García-Martínez, A. (2011). La cadena productiva de ganado bovino en el sur del estado de México. *Revista Mexicana de Agronegocios*. 15(29): 672-680. <https://www.redalyc.org/pdf/141/14119052006.pdf>
- Hess, B.W., Lake, S.L., Scholljegerdes, E.J., Weston, T.R., Nayigihugu, V., Molle, J.D.C. and Moss, G.E. (2005). Nutritional controls of beef cow reproduction. *Journal of Animal Science*. 83: E90-E106. [https://doi.org/10.2527/2005.8313\\_supplE90x](https://doi.org/10.2527/2005.8313_supplE90x)
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). (2018). <http://www.beta.inegi.org.mx/app/buscador/default.html?q=macuspana>
- Lents, C.A., White, F.J., Ciccioli, N.H., Wettemann, R.P., Spicer, L.J. and Lalman, D.L. (2008). Effects of body condition score at parturition and postpartum protein supplementation on estrous behavior and size of the dominant follicle in beef cows. *Journal of Animal Science*. 86: 2549-2556. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1114>
- Lopes-Silva Filho, M., Rocha Bezerra, L., Ferreira-Silva, J. C., Póvoas Paulo Souto, F.M., Paula Oliveira, N.R., Fernandes de Lima, P., Coutinho Bartholomew, C. and Lemos de Oliveira, M.A. (2015). Influence of biostimulation and temporary weaning on follicular dynamics and pregnancy rates in Nelore cows (*Bos taurus indicus*) *Tropical Animal Health and Production*. 47: 1285-1291. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0861-0>
- Lucy, M.C. (2003). Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reproduction Supplies*. 61: 415-427. <https://europepmc.org/article/med/14635952>
- Mackey, D.R., Sreenan, J.M., Roche, J.F. and Diskin, M.G. (2000). The effect of progesterone alone or in combination with estradiol on follicular dynamics, gonadotropin profiles, and estrus in beef cows following calf isolation and restricted suckling. *Journal of Animal Science*. 78:1917-1929. <https://doi.org/10.2527/2000.7871917x>
- Martins, P.G.M.A., Arthington, J.D., Cooke, R.F., Lamb, C.G., Araujo, D.B., Torres, C.A.A., Guimaraes, J.D. and Mancio, A.B. (2012). Evaluation of beef cow and calf separation systems to improve reproductive performance of first-calf cows. *Livestock Science*. 150: 74-79. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.08.003>
- Mejía-Bautista, G.T., Magaña, J.G., Segura-Correa, J.C., Delgado, R. and Estrada-León, R.J. (2010). Comportamiento reproductivo y productivo de vacas *Bos indicus*, *Bos taurus* y sus cruces en un sistema de producción vaca:

- cría en Yucatán, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 12: 289-301. <https://www.redalyc.org/pdf/939/93913070010.pdf>
- Mondragón, V., Galina, C.S., Rubio, I., Corro, M. and Salmerón, F. (2016). Effect of restricted suckling on the onset of follicular dynamics and body condition score in Brahman cattle raised under tropical conditions *Animal Reproduction Science* 167: 89-95. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.02.011>
- Montiel, F. & Ahuja, C. (2005). Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal Reproduction Science*. 85: 1-26. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2003.11.001>
- Murphy, M.G., Boland, M.P. and Roche, J.F. (1990). Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. *Journal of Reproduction and Fertility*. 90: 523-533. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0900523>
- Pérez-Hernández, P., Sánchez-del Real, C. and Gallegos-Sánchez, J. (2001). Anestro posparto y alternativas de manejo del amamantamiento en vacas de doble propósito en trópico. *Investigación Agraria. Producción y sanidad animal*. 16(2): 1-14. [https://www.researchgate.net/profile/Jaime\\_Sanchez10/publication/28124792\\_Anestro\\_posparto\\_y\\_alternativas\\_de\\_manejo\\_del\\_amamantamiento\\_en\\_vacas\\_de\\_doble\\_proposito\\_en\\_el\\_tropico/links/5443da3d0cf2e6f0c0fb992b.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Jaime_Sanchez10/publication/28124792_Anestro_posparto_y_alternativas_de_manejo_del_amamantamiento_en_vacas_de_doble_proposito_en_el_tropico/links/5443da3d0cf2e6f0c0fb992b.pdf)
- Pullan, N.B. (1978). Condition scoring of Fulani cattle. *Tropical Animal Health and Production*. 10:118-120. <https://doi.org/10.1007/BF02235322>
- Quintans, G., Viñoles, C. and Sinclair, K.D. (2004). Follicular growth and ovulation in postpartum beef cows following calf removal and GnRH treatment. *Animal Reproduction Science*. 80: 5-14. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00154-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00154-4)
- Quintans, G., Vázquez, A.I. and Weigel, K.A. (2009). Effect of suckling restriction with nose plates and premature weaning on postpartum anestrous interval in primiparous cows under range conditions. *Animal Reproduction Science* 116: 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.12.007>
- Quintans, G., Banchemo, G., Carriquiry, M., Lopez-Mazz, C. and Baldi, F. (2010). Effect of body condition and suckling restriction with and without presence of the calf on cow and calf performance. *Animal Production Science*. 50: 931-938. <https://doi.org/10.1071/AN10021>
- Rasby, R.J., Wettemann, R.P., Geisert, R.D., Wagner, J.J. and Lusby, K.S. (1991). Influence of nutrition and body condition on pituitary, ovarian, and thyroid function of non-lactating beef cows. *Journal of Animal Science*. 69: 2073-2080. <https://doi.org/10.2527/1991.6952073x>
- Richards, M.W., Wettemann, R.P., Spicer, L.J. and Morgan, G.L. (1991). Nutritional anestrus in beef cows: effects of body condition and ovariectomy on serum luteinizing hormone and insulin-like growth factor-I. *Biology of Reproduction*. 44: 961-966. <https://doi.org/10.1095/biolreprod44.6.961>
- Rodríguez-Sánchez J.A., Sanz, A., Tamanini, C. and Casasús, I. (2015). Metabolic, endocrine, and reproductive responses of beef heifers submitted to different growth strategies during the lactation and rearing periods. *Journal of Animal Science*. 93: 3871-3885. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-8994>
- Salas, G., Gutiérrez, E., Ortega, R. and Hernández, J. (2003). Ácidos grasos no esterificados y condición corporal posparto de vacas Holstein en sistemas de producción a pequeña escala. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 37(2): 139-143. <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193018061006.pdf>
- Savio, J.D., Boland, M.P. and Roche, J.F. (1990). Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*. 88: 581-591. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0880581>
- Silveira, P.A., Spoon, R.A., Ryan, D.P. and Williams, G.L. (1993). Evidence for maternal behavior as a requisite link in suckling-mediated anovulation in cows. *Biology of Reproduction*. 49: 1338-1346. <https://doi.org/10.1095/biolreprod49.6.1338>
- Sinclair, K.D., Revilla, R., Roche, J.F., Quintans, G., Sanz, A., Mackey, D.R. and Diskin, M.G. (2002). Ovulation of the first dominant follicle arising after day 21 postpartum in suckling beef cows. *Journal of Animal Science*. 75: 115-126. <https://doi.org/10.1017/S1357729800052899>
- Schultz, C.L., Ely, D.G., Aaron, D.K., Burden, B.T. and Wyles, J., (2005). Comparison of an early and normal weaning management system on cow and calf performance while grazing endophyte-infected tall fescue pastures. *Journal of Animal Science*. 83: 478-485. <https://doi.org/10.2527/2005.832478x>



- Stagg, K., Spicer, L.J., Sreenan, J.M., Roche, J.F. and Diskin, M.G. (1998). Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotrophin, and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. *Biology of Reproduction*. 59: 777-783. <https://doi.org/10.1095/biolreprod59.4.777>
- Stevenson, J.S., Jaeger, J.R., Rettmer, I., Smith, M.W. and Corah, L.R. (1997). Luteinizing hormone release and reproductive traits in anestrus, estrus-cycling, and ovariectomized cattle after tyrosine supplementation. *Journal of Animal Science*. 75: 2754-2761. <https://doi.org/10.2527/1997.75102754x>
- Stevenson, J.S., Hill, S.L., Bridges, G.A., Larson, J.E. and Lamb, G.C. (2015). Progesterone status, parity, body condition, and days postpartum before estrus or ovulation synchronization in suckled beef cattle influence artificial insemination pregnancy outcomes. *Journal of Animal Science*. 93:2111-2123. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8391>
- Taylor, C., Rajamahendran, R. and Walton, S.J. (1993). Ovarian follicular dynamics and plasma luteinizing hormone concentrations in norgestomet-treated heifers. *Animal Reproduction Science*. 32:173-184. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(93\)90089-A](https://doi.org/10.1016/0378-4320(93)90089-A)
- Vendramini, J.M.B., Sollenberger, L.E., Dubeux, J.C.B., Interrante, S.M., Stewart, R.L. and Arthington, J.D. (2006). Concentrate supplementation effects on forage characteristics and performance of early weaned calves grazing rye-ryegrass pastures. *Crop Science*. 46: 1595-1600. <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.11-0419>
- Vittoni, J.S., Aller, J.F., Otero, G., Scena, C., Alberio, R.H. and Cano, A. (2011). Destete precoz y desempeño reproductivo en vacas tratadas con progesterona intravaginal. *Archivos de Zootecnia*. 60(232): 1065-1076. <http://scielo.isciii.es/pdf/azoo/v60n232/art22.pdf>
- Watanabe, U., Takagi, M., Yamato, O., Otoi, T., Tshering, Ch. and Okamoto, K. (2013). Metabolic profile of Japanese black breeding cattle herds: usefulness in selection for nutrient supplementation to enhance reproductive performance and regional differences. *Journal of Veterinary Medical Science*. 75: 481-487. <https://doi.org/10.1292/jvms.12-0441>
- Waterman, R.C., Geary, T.W., Paterson, J.A. and Lipsey, R.J. (2012). Early weaning in Northern Great Plains beef cattle production systems: I. Performance and reproductive response in range beef cows. *Livestock Science*. 148: 26-35. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.05.004>
- Wettemann, R.P., Lents, C.A., Ciccioli, N.H., White, F.J. and Rubio, I. (2003). Nutritional- and suckling-mediated anovulation in beef cows. *Journal of Animal Science*. 81(2): E48-E59. [https://doi.org/10.2527/2003.8114\\_suppl\\_2E48x](https://doi.org/10.2527/2003.8114_suppl_2E48x)
- Williams, G.L., Gazal, O.S., Guzmán-Vega, G.A. and Stanko, R.L. (1996). Mechanism regulating suckling-mediated anovulation in the cow. *Animal Reproduction Science*. 42: 289-297. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(96\)01531-X](https://doi.org/10.1016/0378-4320(96)01531-X)
- Whisnant, C.S., Kiser, T.E., Thompson, F.N. and Hall, J.B. (1985). Effect of nutrition on the LH response to calf removal and GnRH. *Theriogenology*. 24: 565-573. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(85\)90062-7](https://doi.org/10.1016/0093-691X(85)90062-7)
- Zieba, D.A., Amstalden, M. and Williams, G.L. (2005). Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: A comparative review. *Domestic Animal Endocrinology*. 29:166-185. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.02.019>