

# Evaluación de diferentes fluidos corporales de la vaca, como inductores del reflejo de Flehmen en toros Holstein

Mario Pérez Martínez\*  
José J. Martínez Maya\*\*  
Jorge I. Olivera López\*\*\*

## Resumen

Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) Conocer el patrón (duración y frecuencia) del reflejo de Flehmen (RF) del toro en respuesta a muestras de moco cérvico-vaginal obtenidas el día 0 del ciclo estral. 2) Conocer el patrón del RF del toro en respuesta a improntas cérvico-vaginales obtenidas los días 3, 6, 9, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21 posestro y determinar si existen diferencias entre estos días. 3) Conocer el patrón del RF del toro en respuesta a muestras de leche obtenidas los días 0, 3, 6, 9, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, posestro y determinar si existían diferencias entre dichos días. En cada experimento se registró con un cronómetro la duración y frecuencia con que se daba el RF en un tiempo de exposición a la muestra de dos minutos. Se encontró una diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) entre los valores promedio obtenidos respecto a la duración y frecuencia del RF durante los días del ciclo estral evaluados con muestras de moco e impronta cervico-vaginal, así como con las muestras de leche. Los resultados obtenidos sugieren que la capacidad de estos fluidos para inducir el RF en el toro varía según la etapa del ciclo estral en que se encuentran las vacas y que en consecuencia las características olorosas de dichos fluidos varían según la ciclicidad ovárica. Este trabajo concuerda con estudios previos en el sentido de que el toro es capaz de predecir el inicio del estro de la vaca, incluso con varios días de anticipación, por medio del análisis olfativo del olor característico de las excreciones de la hembra.

## Introducción

Un patrón conductual común en la mayor parte de los ungulados es el Reflejo Olfatorio (RF) o Flehmen.<sup>3</sup>

Recibido para su publicación el 11 de marzo de 1991

\* Departamento de Histología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

\*\* Departamento de Medicina Preventiva. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

\*\*\* Departamento de Biología de la Reproducción, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM, Iztapalapa, Av. Michoacán y la Purísima, Col. Vicentina, 09430, México, D.F.

Este término fue introducido por Schneider en 1930 para describir un acto estereotípico desarrollado principalmente por los machos de casi todos los ungulados.<sup>2, 9, 11</sup>

Estes<sup>1</sup> describió la forma típica del RF, el cual se caracteriza porque el macho eleva la cabeza y cuello, contrae los ollares y retrae el labio superior cuando interacciona con una hembra en estro tras olfatear sus genitales externos, generalmente es seguido de la monta.

Fraser<sup>2</sup> consideró al RF un patrón motor relacionado con la olfacción de ciertas substancias olorosas, en especial la orina. Luego, la función principal del RF podría ser el análisis de diferentes excreciones de las hembras (orina, moco cervical, sudor), por medio de la estimulación de receptores existentes en el Órgano Vomero Nasal (OVN) para saber el estado reproductivo de la hembra.<sup>2</sup>

Paleologou<sup>10</sup> observó que al dar a oler guantes de plástico impregnados de secreción cérvico-vaginal y materia fecal de vacas en estro a toros, éstos mostraron un gran interés por olfatear las muestras, presentando al último el RF. Asimismo dio a oler y frotó sobre un maniquí moco cérvico-vaginal obtenido de vacas en etapa de metaestro y diestro; en este caso, los toros no se interesaron por las muestras. De lo anterior concluyó que el olor del moco cérvico-vaginal de vacas en estro atrae y excita a los machos y que este tipo de análisis olfativo pudiera servir para la detección de vacas en estro destinadas a la inseminación artificial.

Kiddy *et al.*<sup>6</sup> realizaron un estudio utilizando perros entrenados para determinar si existe un olor característico al momento del estro en las secreciones vaginales, leche y orina de las vacas, que los perros pudieran detectar. Los resultados de dicho experimento indicaron que existe un olor específico asociado al estro en vacas y que los perros entrenados son capaces de detectarlo.

Los objetivos del presente estudio fueron: 1) Conocer el patrón (duración y frecuencia) del RF del toro en respuesta a muestras de moco cérvico-vaginal obtenidas el día 0 del ciclo estral. 2) Conocer el patrón del RF del toro en respuesta a improntas cérvico-vaginales obtenidas los días 3, 6, 9, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21 posestro y determinar si existen diferencias entre estos días. 3) Conocer el patrón del RF del toro en respuesta a muestras de leche obtenidas los días 0, 3, 6, 9, 12, 15,

16, 17, 18, 19, 20 y 21 posestro y determinar si existen diferencias entre dichos días.

## Material y métodos

Se utilizaron 39 vacas Holstein de segundo y tercer parto, mantenidas en un sistema de explotación tipo intensivo. A partir de aquellos animales que al inicio del experimento se encontraron en estro, se obtuvo una muestra de moco cérvico-vaginal, la cual se mantuvo en frascos de vidrio. Para la determinación de la fase del ciclo estral se revisaron las tarjetas de registro de los animales; asimismo, se observó el comportamiento sexual en los corrales diariamente y se efectuó el examen del aparato reproductor por palpación rectal. El día en que se registró el inicio del estro se consideró como el día 0, integrándose paulatinamente al experimento el resto de las vacas conforme llegaban a ese estado.

El muestreo se repitió cada tercer día hasta los 15 días y después a diario hasta el 21. En estos casos se obtuvo una impronta cérvico-vaginal mediante la introducción de una mano enguantada en el vestíbulo vaginal, aplicando un masaje suave al mismo tiempo. Se obtuvieron muestras de leche a partir de aquellos animales que estaban en producción, para lo cual se utilizaron frascos de vidrio libres de aromas. La toma de muestras se efectuó al momento de la ordeña en todos los animales empleados en el estudio y se mantuvieron a temperatura de refrigeración durante un máximo de dos horas antes de ser evaluadas.

Para la evaluación de las muestras se usaron cinco sementales Holstein en edad reproductiva y sin expe-

**Cuadro 1**  
VALORES PROMEDIO DE LA DURACION Y FRECUENCIA DEL REFLEJO DE FLEHMEN EN TOROS, ESTIMULADOS CON MUESTRAS DE MOCO E IMPRONTA CÉRVICO VAGINAL OBTENIDAS DE DIFERENTES DIAS DEL CICLO ESTRAL\*  
(Día 0 = Estro)\*

Día del ciclo**	Número de observaciones	Duración/seg $\bar{x} \pm D.E.$	Frecuencia/2 min $\bar{x} \pm D.E.$
0	33	7.06 ± 2.08 <sup>ac</sup>	2.06 ± 0.54 <sup>a</sup>
3	10	3.24 ± 3.90 <sup>b</sup>	0.66 ± 0.94 <sup>bc</sup>
6	10	3.23 ± 4.75 <sup>be</sup>	0.33 ± 0.47 <sup>b</sup>
9	10	3.12 ± 3.92 <sup>bd</sup>	0.66 ± 0.63 <sup>b</sup>
12	10	4.30 ± 6.50 <sup>bcd</sup>	0.44 ± 0.68 <sup>b</sup>
15	7	2.84 ± 4.05 <sup>bd</sup>	0.33 ± 0.47 <sup>b</sup>
16	39	5.61 ± 2.72 <sup>abcde</sup>	1.38 ± 0.86 <sup>cd</sup>
17	38	6.45 ± 3.45 <sup>ac</sup>	1.42 ± 0.84 <sup>cd</sup>
18	37	6.41 ± 3.00 <sup>ac</sup>	1.47 ± 0.79 <sup>d</sup>
19	35	5.81 ± 2.94 <sup>acde</sup>	1.54 ± 0.87 <sup>d</sup>
20	34	7.15 ± 2.84 <sup>a</sup>	1.58 ± 0.64 <sup>d</sup>
21	29	6.23 ± 2.16 <sup>acd</sup>	1.48 ± 0.77 <sup>d</sup>

\* Las muestras testigo en ninguna prueba indujeron el reflejo de Flehmen

\*\* En el día 0 se utilizaron muestras de moco cervical, en los restantes días impronta cérvico-vaginal

a, b, c, d, e. Para una determinada variable (columna), valores que no comparten por lo menos una literal son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ )

**Cuadro 2**  
VALORES PROMEDIO DE LA DURACION Y FRECUENCIA DEL REFLEJO DE FLEHMEN EN TOROS, ESTIMULADOS CON MUESTRAS DE LECHE OBTENIDAS DE DIFERENTES DIAS DEL CICLO ESTRAL\*  
(Día 0 = Estro)\*

Día del ciclo	Número de observaciones	Duración/seg $\bar{x} \pm D.E.$	Frecuencia/2 min $\bar{x} \pm D.E.$
0	27	6.41 ± 2.02 <sup>a</sup>	1.29 ± 0.56 <sup>d</sup>
3	10	1.18 ± 2.34 <sup>b</sup>	0.33 ± 0.66 <sup>ac</sup>
6	10	1.85 ± 3.64 <sup>bd</sup>	0.22 ± 0.41 <sup>a</sup>
9	10	1.74 ± 2.60 <sup>b</sup>	0.33 ± 0.47 <sup>a</sup>
12	10	0.99 ± 1.86 <sup>b</sup>	0.22 ± 0.40 <sup>a</sup>
15	7	1.29 ± 1.86 <sup>bd</sup>	0.33 ± 0.47 <sup>ab</sup>
16	37	4.32 ± 3.29 <sup>cd</sup>	0.91 ± 0.74 <sup>ad</sup>
17	36	4.74 ± 3.68 <sup>ac</sup>	1.00 ± 0.81 <sup>ad</sup>
18	35	5.59 ± 3.59 <sup>ac</sup>	1.02 ± 0.73 <sup>ad</sup>
19	34	5.33 ± 3.79 <sup>ac</sup>	0.88 ± 0.67 <sup>ac</sup>
20	33	5.14 ± 3.41 <sup>ac</sup>	1.06 ± 0.91 <sup>cd</sup>
21	27	5.73 ± 3.40 <sup>ac</sup>	1.03 ± 0.79 <sup>bc</sup>

\* Las muestras testigo en ninguna prueba indujeron el reflejo de Flehmen a, b, c, d. Para una determinada variable (columna), valores que no comparten por lo menos una literal son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ )

riencia sexual previa, los cuales se mantuvieron amarrados en un corral aislado durante el experimento.

Se evaluó la ocurrencia y duración del RF con cada una de las muestras, para lo cual se utilizó un cronómetro. Las muestras fueron presentadas al azar.

A cada semental se le presentó dos muestras, primero una testigo consistente en un guante de plástico previamente empapado con agua destilada y después la muestra de moco contenida en un frasco de vidrio o en un guante de plástico con impronta cérvico-vaginal; en ambos casos, con un tiempo de exposición de dos minutos y a una distancia aproximada de 5 cm de los ollares.

Cada muestra fue tomada a diferente animal, hasta la quinta; cuando se disponía de más de cinco muestras se utilizó de nuevo el primer animal sin repetir más de dos veces el experimento por animal/día. Dos horas después de que los toros evaluaron las secreciones uterinas, se les presentaron las muestras de leche de la misma manera.

En cada experimento se empleó una bata libre de aromas para no interferir con los resultados. Los valores obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza para cada tipo de muestra, determinando posteriormente la diferencia entre los promedios de cada grupo, mediante la prueba de amplitud múltiple de Duncan con número desigual de repetición.

## Resultados

Mediante un análisis de varianza se encontró que al menos uno de los promedios de la duración del RF difirió entre los días del ciclo estral ( $P < 0.05$ ), tanto en moco e impronta cérvico-vaginal como en leche. Los promedios de los días que resultaron diferentes se observan en los Cuadros 1 y 2. Las muestras testigo en ningún experimento indujeron la presentación del RF.

## Discusión

Los valores obtenidos sugieren que el olor característico del moco y de las improntas cérvico-vaginales se modifica según la etapa del ciclo estral en que se encuentra la vaca. Lo anterior se considera debido a que fue precisamente en los días en que se registra una influencia estrogénica importante (0, 16, 17, 18, 19, 20 y 21), cuando se obtuvieron los valores más altos de duración y frecuencia para el RF.

En contraste, en los días 3, 6, 9, 12 y 15 posestro se obtuvieron los valores más bajos; dichos días corresponden a la etapa de metaestro y diestro del ciclo estral. El olor característico de la leche mostró un comportamiento similar a las secreciones uterinas, ya que los valores promedio obtenidos sugieren que sus particularidades olorosas se modifican de acuerdo a la ciclicidad ovárica, por lo que se piensa que este fluido, al igual que las secreciones uterinas, pudiera servir como un indicador de la fase del ciclo estral de la hembra.

Con base en los informes de diversos autores<sup>7,8,10</sup> en cuanto a que las secreciones uterinas de la vaca presentan un olor característico durante los días próximos al estro y desaparece o se atenúa durante el metaestro y el diestro, se decidió en el presente estudio reducir el número de muestras tomadas entre los días 3 y 15 del ciclo; de esta manera, también se evitó el manejo excesivo del ganado.

Los resultados de este trabajo coinciden con los informes de otros autores<sup>4, 7, 8</sup> en cuanto a que las secreciones cérvico-vaginales y la leche provenientes de vacas en proestro y estro son un vehículo, contienen substancias olorosas asociadas al estro, o ambas cosas. Se considera que las feromonas son mensajeros químicos que provocan una reacción específica en un individuo receptor de la misma especie,<sup>5</sup> por tanto, al haber utilizado machos de la misma especie y raza para evaluar los fluidos corporales, se evitan posibles errores de percepción dados por una diferencia de especie.

## Abstract

An evaluation of different cow fluids as inductors of the Flehmen's reflex (FR) in Holstein bulls was carried out. The objectives of this study were: 1) To find out the

FR's response pattern (duration and frequency) of cervico-vaginal mucus samples obtained on the day 0 of the estral cycle; 2) To find out the FR's response pattern to improntae of cervico-vaginal mucus obtained on days 3, 6, 9, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20 and 21 post-oestrus and to determine if there are differences among these days and 3) To find out the FR's response pattern to samples of milk obtained on the days mentioned above, and to determine if there are differences among these days. A significant statistical difference ( $P < 0.05$ ) was found among the average values obtained regarding the FR's duration and frequency during the days of the estral cycle evaluated. This study suggests that the capacity of these fluids to induce the FR varies according to the stage of the cow's estral cycle and, consequently, that the odoriferous features of these fluids vary according to the ovarian cyclicity. The results obtained in this study agree with previous ones due to the fact that the bull is able to predict the beginning of the oestrus, even with several days previous to the onset by the olfactive analysis of the odoriferous features of the cow's excretions.

## Literatura citada

1. Estes, R.D.: The role of the vomeronasal organ in mammalian reproduction. *Mammalia*, 36: 315-341 (1972).
2. Fraser, A.F.: Reproductive Behavior in Ungulates. Academic Press, New York, 1968.
3. Fraser, A.F.: Farm Animal Behavior. Baillière and Tindall, London, 1980.
4. Hawk, H.W. and Kiddy, C.A.: Estrus-related odors in milk detected by trained dogs. *J. Dairy Sci.*, 67: 393-397 (1984).
5. Karlson, P. and Lüscher, M.: Pheromones: A new term for a class of biologically active substances. *Nature*, 183: 55-56 (1959).
6. Kiddy, C.A., Mitchell, D.S., Bolt, D.J. and Hawk, H.: Detection of estrus-related odors in cows by trained dogs. *Biol. Reprod.*, 19: 389-395 (1978).
7. Kiddy, C.A. and Mitchell, D.S.: Estrus-related odors in cows: Time of occurrence. *J. Dairy Sci.*, 64: 267-271 (1981).
8. Kiddy, C.A., Mitchell, D.S. and Hawk, H.W.: Estrus related odors in body fluids of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 67: 388-391 (1984).
9. Marinier, S.L.: Flehmen behavior in the domestic horse: Discrimination of conspecific odours. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 19: 227-237 (1988).
10. Paleologou, A.M.: Detecting oestrus in cows by a method based on bovine sex pheromones. *Vet. Rec.*, 100: 319-320 (1977).
11. Sharon, C.: The ontogeny of flehmen in horses. *Anim. Behav.*, 33: 739-745 (1986).