

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**SEGUIMIENTO ECOGRÁFICO DE LA DINÁMICA FOLICULAR DURANTE EL
CICLO ESTRAL EN VACAS BAJO CONDICIONES PASTORILES EN URUGUAY**

por:

Juan Manuel BANCHERO MARTINEZ

TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias
Orientación: Producción Animal

MODALIDAD: Situación problema

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2021**

PÁGINA DE APROBACIÓN:

Tesis de grado aprobada por:



Presidente de mesa:

Dr. Rafael Aragunde



Segundo miembro (Tutor):

Dra. Daniela Crespi



Tercer miembro:

Dr. Juan Carlos Boggio

Fecha: 20 de Diciembre de 2021



Autor:

Br. Juan Manuel Banchemo

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Daniela Crespi por su tutoría, apoyo y excelente dedicación en todo momento para la realización de esta tesis.

Al Dr. Fernando Vila por su gran colaboración con el análisis estadístico.

A mi familia por su apoyo incondicional durante toda la carrera, sin el cual no hubiese sido posible la realización de la misma.

A mi amigo el Dr. Juan Martin Machado por su fundamental colaboración en el trabajo de campo de esta tesis.

A Julia y Alejandra de biblioteca por su ayuda, disposición, proporción de material bibliográfico y corrección de este trabajo.

Al personal del Campo Nº 2 de Facultad de Veterinaria donde se llevó a cabo el trabajo de campo.

A los amigos y compañeros con los que transite la carrera con los cuales vivimos momentos inolvidables.

TABLA DE CONTENIDO

Página

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE FIGURAS.....	5
RESUMEN.....	6
SUMMARY.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	9
CICLO ESTRAL BOVINO.....	9
Regulación endócrina del ciclo estral.....	9
Dinámica folicular ovárica.....	15
Patrón de crecimiento durante el desarrollo de los folículos antrales.....	16
Interrelaciones endócrinas y foliculares en el desarrollo de la onda folicular.....	18
ECOGRAFÍA.....	20
Historia e introducción.....	20
Bases de la ecografía.....	21
Examen ecográfico del sistema reproductor.....	22
HIPÓTESIS.....	23
OBJETIVOS GENERALES.....	23
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
RESULTADOS.....	27
DISCUSIÓN.....	32
CONCLUSIONES.....	33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
ANEXOS.....	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema hormonal del ciclo estral.....	9
Figura 2. Esquema simplificado de las interacciones hormonales del eje Hipotálamo - Hipófisis – Ovario.....	10
Figura 3. Imagen de los animales participantes del ensayo a campo natural.....	24
Figura 4. Observación de manifestaciones de celo después de la segunda dosis de prostaglandina.....	25
Figura 5. Observación de manifestaciones de celo después de la segunda dosis de prostaglandina.....	25
Figura 6. Observación de manifestaciones de celo después de la segunda dosis de prostaglandina.....	25
Figura 7. Imágenes ecográficas obtenidas durante el trabajo.....	26
Figura 8. Gráfica vaca 036.....	28
Figura 9. Gráfica vaca 954.....	28
Figura 10. Gráfica vaca 837.....	29
Figura 11. Gráfica vaca 116.....	29
Figura 12. Gráfica vaca 952.....	30
Figura 13. Gráfica vaca 831.....	30
Figura 14. Gráfica vaca 916.....	31
Figura 15. Gráfica vaca 114.....	31

RESUMEN

El propósito de este trabajo fue contribuir al conocimiento de la fisiología reproductiva de la hembra bovina, describiendo la dinámica folicular durante el ciclo estral, dejando un registro nacional sobre la preponderancia de ciclos estrales de 2 o 3 ondas de desarrollo folicular.

Se evaluaron los patrones de crecimiento y regresión mediante el seguimiento ecográfico diario de las estructuras ováricas en 8 vacas durante un ciclo estral completo y de esta manera poder establecer patrones de ondas foliculares, número de ondas y su día de emergencia, medida del diámetro del folículo dominante y del cuerpo lúteo así como duración del ciclo.

Se observaron ciclos con 3 ondas de desarrollo folicular en un 62,5 % (n=5) de los casos y ciclos con 2 ondas en un 37,5 % (n=3). La duración de los ciclos fue de 19 ± 1 días para los ciclos de 2 ondas y $22,2 \pm 0,4$ días en el caso de los de 3 ondas.

Las ondas foliculares emergieron los días 0 ± 0 y $9,7 \pm 0,6$ en los ciclos de 2 ondas y los días 0 ± 0 , $8,2 \pm 0,4$ y $15,2 \pm 0,4$ en ciclos de 3 ondas.

Los diámetros máximos alcanzados por el folículo dominante fueron de 18 ± 2 y 15 ± 1 mm para ciclos de 2 y 3 ondas respectivamente.

El diámetro máximo del cuerpo lúteo alcanzado fue de 29 ± 1 mm en ciclos de 2 ondas y de $25 \pm 0,7$ mm en el caso de los de 3.

El cuerpo lúteo comenzó su regresión el día 15 ± 0 cuando el ciclo presento 2 ondas y el día $18,6 \pm 0,5$ en los ciclos con 3 ondas.

Por más que nuestro n era chico podemos sugerir que, hay una supremacía de ciclos estrales de 3 ondas de desarrollo folicular sobre ciclos de 2 ondas y el número de ondas afecta los parámetros reproductivos evaluados para el caso de vacas multíparas en condiciones pastoriles en Uruguay.

SUMMMARY

The objective of this trial was to contribute to the knowledge of the reproductive physiology of the bovine female, describing the follicular dynamics during the estrous cycle, leaving a national registry on the preponderance of estrous cycles of 2 or 3 waves of follicular development.

Growth and regression patterns were evaluated by daily ultrasound monitoring the ovarian structures in 8 cows during a complete estrous cycle and in this way to be able to establish patterns of follicular waves, the number of waves and their day of emergence, measurement of follicle diameter, dominance and corpus luteum as well as cycle length.

Cycles with 3 waves of follicular development were observed in 62.5% (n = 5) of the cases and cycles with 2 waves in 37.5% (n = 3). The length of the cycles was 19 ± 1 days for the 2-wave cycles and 22.2 ± 0.4 days for the 3-wave cycles.

The follicular waves emerged on days 0 ± 0 y 9.7 ± 0.6 in the 2-wave cycles and on days 0 ± 0 , 8.2 ± 0.4 y 15.2 ± 0.4 in 3-wave cycles.

The maximum diameters reached by the dominant follicle were 18 ± 2 y 15 ± 1 mm for cycles of 2 and 3 waves, respectively.

The maximum diameter of the corpus luteum reached was 29 ± 1 mm in cycles of 2 waves and 25 ± 0.7 in the case of 3 waves. The corpus luteum began its regression on day 15 ± 0 when the cycle presented 2 waves and on day 18.6 ± 0.5 in the cycles with 3 waves.

Although n was small, we can suggest that there is a supremacy of estrous cycles of 3 waves of follicular development over cycles of 2 waves and the number of follicular waves affects the reproductive parameters evaluated in the case of multiparous cows in grazing conditions in Uruguay.

INTRODUCCIÓN

El ciclo estral de la hembra bovina es un conjunto de eventos que ocurren sucesivamente en el animal no gestado luego de la pubertad con una duración que va de los 17 a los 24 días (Ungerfeld, 2002).

El desempeño de los rodeos bovinos está determinado por la eficiencia reproductiva de las hembras (Delgado, Cuéllar, Sánchez y Rojas, 2011). Comprender la fisiología del ciclo estral nos brinda una mayor capacidad de manipular su control.

El proceso continuo de crecimiento y regresión que presentan los folículos antrales, conducen al desarrollo del folículo preovulatorio, esto es conocido como “dinámica folicular” (Lucy, Savio, Badinga, De La Sota y Thatcher, 1992).

Los bovinos presentan un crecimiento folicular en un modelo de ondas. La mayoría de los ciclos estrales están compuestos por 2 o 3 ondas de desarrollo folicular (Adams, Jaiswal, Singh y Malhi, 2008; Knopf, Kastelic, Schallenberger y Ginther, 1989; Sirois y Fortune, 1988). En cuanto a la preponderancia de los diferentes patrones de crecimiento folicular hay diferencias en los diferentes trabajos realizados. Podemos encontrar trabajos que obtuvieron una mayor proporción de ciclos estrales con 2 ondas foliculares (Ginther, Knopf y Kastelic, 1989; Rajamahendram y Taylor, 1990; Sartori, Haughian, Shaver, Rosa y Wiltbank, 2004), así como publicaciones que reportaron una mayor preponderancia de ciclos de 3 ondas (Bo et al., 1993; Rhodes, De'ath y Entwistle, 1995; Savio, Keenan, Boland y Roche, 1988; Sirois y Fortune, 1988). A su vez otros autores tuvieron como resultado una distribución similar (Adams y Pierson, 1995; Evans, Adams y Rawlings, 1994; Savio, Boland y Roche, 1990).

La duración del ciclo estral de la vaca depende principalmente de su patrón de desarrollo folicular. Es así que los ciclos de dos ondas tienen una duración de 18 a 20 días mientras que los de 3 ondas se extienden a 21-23 días (Colazo y Mapletoft, 2014; Ungerfeld, 2002).

La razón evolutiva de un ciclo de 2 o 3 ondas, incluso el hecho en sí mismo de que el crecimiento folicular sea en ondas aún no está del todo claro, pero los diferentes perfiles de crecimiento de ondas foliculares tienen gran repercusión tanto sobre los diferentes protocolos para la sincronización de la ovulación así como para la superestimulación ovárica (Colazo y Mapletoft, 2014).

El conocimiento de las ondas foliculares y su regulación nos permite predecir de manera bastante precisa la respuesta a los diferentes métodos de control hormonal del ciclo estral que van a presentar los animales. (Fernández, 2003).

El avance en el conocimiento sobre la dinámica de la población folicular presente en el ovario de la hembra bovina hace posible que se pueda controlar, mediante diferentes protocolos, no solo la inducción y la sincronización de celos sino que también de la ovulación (Fernández, 2003; Lucy *et al.*, 1992).

Por todo esto, nos planteamos monitorear ecográficamente un ciclo estral completo para poder conocer el comportamiento de las ondas foliculares de vacas múltiparas en nuestras condiciones pastoriles.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CICLO ESTRAL BOVINO

Regulación endócrina del ciclo estral

Los bovinos son animales poliéstricos, no estacionales y presentan ciclos estrales con una duración de 21 días (rango 17 – 24 días) en promedio (Senger, 2003). No obstante los ciclos que se inician en el post parto temprano son más cortos, aproximándose a los 15 días (Quintela, Díaz, Herradón, Peña y Becerra, 2006). Durante el ciclo estral se producen una serie de cambios en el ovario que terminan en la ovulación y la expulsión de un ovocito capacitado para ser fecundado por un espermatozoide y soportar el desarrollo temprano. Todos estos cambios están regulados mediante la coordinación de 4 órganos que son: cerebro, hipófisis, ovarios y útero (eje hipotálamo-hipofisario-gonadal). La comunicación es principalmente (aunque no exclusivamente) a través de hormonas. Las hormonas más importantes que intervienen son: la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) que es secretada por el hipotálamo, la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH) secretadas por la hipófisis, el estradiol, la inhibina y la progesterona cuyo origen es ovárico y la prostaglandina F_{2α} que es secretada por el útero (Atuesta y Diaza, 2011; Ungerfeld, 2002). En la figura 1 se observa una representación del ciclo estral de la vaca con las concentraciones relativas de las hormonas.

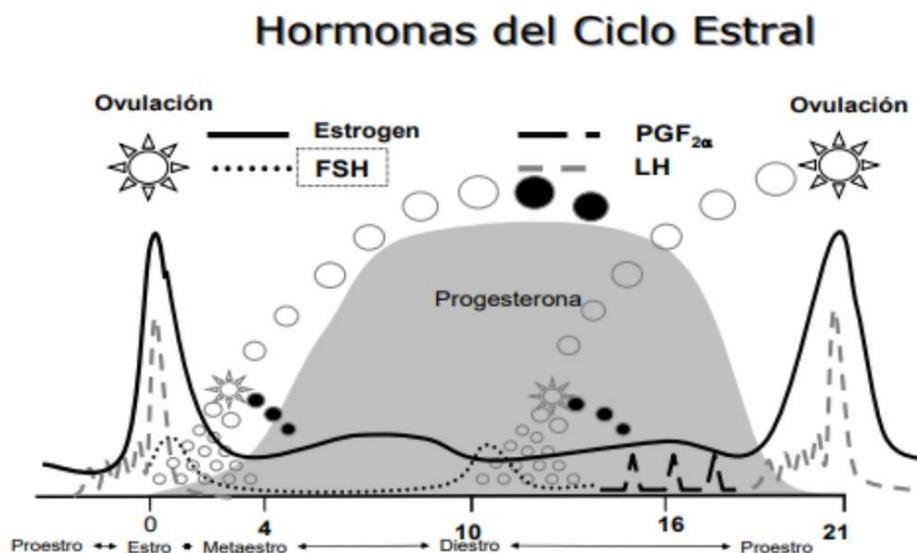


Figura 1: Esquema hormonal del ciclo estral. Imagen tomada de Rippe, 2009

Estas hormonas actúan a través de un sistema de retroalimentación positiva y negativa que gobierna el ciclo estral del bovino (Colazo y Mapletoft, 2014). En la figura 2 podemos observar cómo interactúan las hormonas.

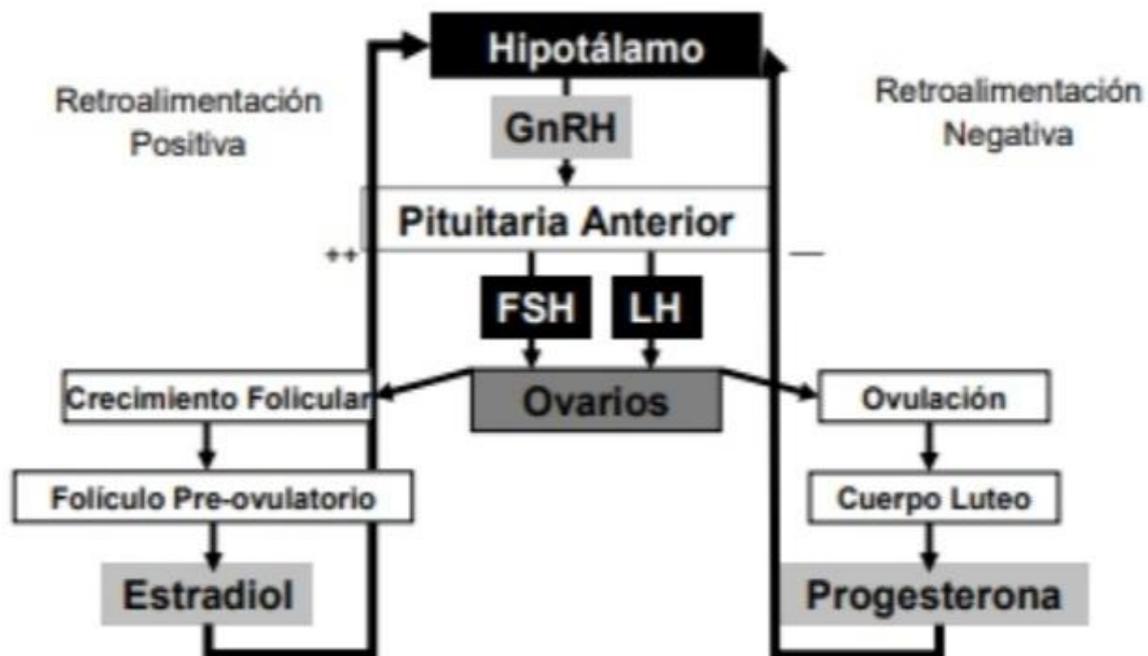


Figura 2: Esquema simplificado de las interacciones hormonales del eje Hipotálamo – Hipófisis – Ovario. Imagen tomada de Rippe, 2009

La GnRH es un decapeptido producido por neuronas de las áreas ventromedial y preóptica del hipotálamo. Dicha hormona desempeña un papel fundamental en el desarrollo y mantenimiento de la reproducción de los vertebrados. La función más conocida de la GnRH es el control de la secreción de LH y FSH en la hipófisis, a la cual llega, a través de axones que vierten su secreción en la circulación portal (Ungerfeld, 2002). La GnRH llega a la pituitaria anterior a través del sistema porta hipotálamo-hipofisario y controla la liberación de LH y FSH uniéndose a su proteína G acoplada al receptor en la superficie celular de las células gonadotrofos (Atuesta y Díaz, 2011; Colazo y Mapletoft, 2014).

La GnRH es secretada de dos formas: una secreción desde el centro tónico del hipotálamo, que mantiene los niveles constantes de GnRH; y otra desde el centro cíclico, que anteriormente se creía que era en respuesta a la elevación de los niveles de estrógenos y que provoca la descarga preovulatoria de LH (Quintela *et al.*, 2006). Actualmente existe evidencia de que las neuronas secretoras de GnRH no presentan receptores para estrógenos, por lo que es poco probable que exista una acción directa sobre la secreción de GnRH. Existe un grupo de neuronas hipotalámicas que expresan el gen Kiss-1 que codifica el péptido Kisspeptina el cual se ha demostrado que es un potente estimulador de la secreción de GnRH y para el cual las neuronas secretoras de GnRH tienen receptores (Gottsche *et al.*, 2004). Por

lo tanto se cree que la Kisspeptina podría informar a las neuronas secretoras de GnRH sobre las concentraciones sanguíneas de las hormonas esteroideas y de esa forma estimular su secreción (Colazo y Mapletoft, 2014).

La LH, la FSH y en menor medida la prolactina son hormonas sintetizadas en la adenohipófisis que intervienen en la regulación del ciclo estral (Quintela *et al.*, 2006; Ungerfeld, 2002). Tanto la LH como la FSH son glicoproteínas que están constituidas por dos subunidades proteicas diferentes llamadas α y β . La subunidad β es determinante en la actividad biológica de la hormona, siendo ésta específica de cada hormona en cada especie y es codificada por genes diferentes. Existen diferentes factores reguladores que promueven o inhiben la expresión del gen de la subunidad β de cada una de ellas (Ungerfeld, 2002).

Tanto la LH como la FSH están encargadas de estimular el crecimiento y la maduración del folículo. La FSH actúa en el inicio del crecimiento folicular estimulando el reclutamiento folicular mientras que la LH interviene en la maduración final del folículo dominante y en la ovulación (Quintela *et al.*, 2006; Rippe, 2009).

La FSH se almacena en gránulos secretores en el citoplasma durante períodos cortos de tiempo, mientras que la LH lo hace por períodos más largos durante el ciclo estral (Colazo y Mapletoft, 2014).

Ambas hormonas regulan la secreción de estrógenos actuando de manera coordinada ya que la LH estimula la secreción de andrógenos en las células de la teca, que serán luego transformados en estrógenos por las células de la granulosa por efecto de la FSH (Quintela *et al.*, 2006).

Dentro de las hormonas ováricas encontramos a los estrógenos, progesterona, inhibina, folistatina, activina (Quintela *et al.*, 2006; Ungerfeld, 2002).

Los retrocontroles gonadales (esteroides: estradiol, progesterona; proteínas: inhibina, activina, folistatina) sobre la FSH actúan principalmente a nivel hipofisario, mientras que la mayoría de los retrocontroles sobre la LH se efectúan a nivel hipotalámico, modulando la liberación de GnRH (Ungerfeld, 2002). La inhibina es una glucoproteína secretada por las células de la granulosa del folículo que inhibe de forma selectiva la síntesis y liberación de FSH por las células de la adenohipófisis. (Quintela *et al.*, 2006; Rippe, 2009).

El estradiol es producto de la actividad secretora del folículo y actúa sobre el sistema nervioso central (Quintela *et al.*, 2006; Rippe, 2009). El aumento de las concentraciones de E2, proveniente del folículo dominante preovulatorio, induce un pico de GnRH (a través de la Kisspeptina) y a su vez permite la visualización del comportamiento estral durante el cual las hembras son sexualmente receptivas y permiten ser montadas. Este pico preovulatorio de GnRH induce un pico de LH y FSH y la ovulación ocurre en promedio a las 27 horas después del pico de LH o inicio del estro (Colazo y Mapletoft, 2014).

Cuando se produce la descarga preovulatoria de LH, los niveles de progesterona circulante son bajos debido a la regresión del cuerpo lúteo. Simultáneamente al descenso en los niveles de progesterona se da un incremento en la frecuencia de los pulsos de LH, así como también se observa un aumento en sus niveles basales. Finalmente el aumento en los niveles llega a ser 20 a 80 veces superior que los

niveles basales por un lapso de 6-12 horas, siendo esto lo que se conoce como pico de LH. Es a partir de éste que se desencadena el proceso ovulatorio con lo cual el folículo preovulatorio libera al ovocito (Atuesta y Diaza, 2011; Ungerfeld, 2002).

El descenso en los niveles de progesterona lleva a que se produzca una retroalimentación positiva entre la GnRH y la LH por un lado y los estrógenos por otro, ya que a cada pulso de GnRH la hipófisis responde con un pulso de LH y en respuesta a ese pulso de LH el folículo secreta estrógenos (Ungerfeld, 2002). Los estrógenos hacen que se produzca un nuevo pulso de LH de manera rápida, el cual provocara un nuevo aumento en los niveles de estrógenos. El estradiol a su vez provoca un aumento en la sensibilidad de la hipófisis a la GnRH por lo que al final se produce una importante descarga de LH (el pico de LH). Se cree que los estrógenos actúan tanto en el hipotálamo (estimulando la GnRH) como en la hipófisis (estimulando directamente la LH). El pico de LH provoca la ovulación del folículo preovulatorio y la luteinización de la estructura folicular remanente por lo que los niveles de estrógenos descienden rápidamente y comienza la formación de un nuevo cuerpo lúteo. Por tanto, se puede afirmar que es el mismo folículo el que da inicio a los mecanismos que lo destruirán (la ovulación) (Atuesta y Diaza, 2011; Ungerfeld, 2002). La abrupta caída de los niveles de estrógenos favorece el transporte del cigoto desde el oviducto al útero (Quintela *et al.*, 2006).

Justo antes de que la ovulación ocurra se dan cambios en el folículo que provocan que las células de la granulosa dejen de producir estrógenos y pasen a secretar progesterona. Paralelamente ocurre un debilitamiento en la pared del folículo que termina con la ruptura de la misma para que pueda darse la liberación del ovocito. A partir del pico de LH se reanuda la meiosis la cual estaba inhibida por un factor que se presume que es secretado por la granulosa. Otro hecho que también se da a partir del pico de LH es la desaparición del factor inhibidor de la luteinización, el cual evita que las células de la granulosa sufran luteinización prematuramente. A partir del pico de LH, incluso antes de producirse la ovulación, las células de la granulosa empiezan a transformarse en células luteales. También hay que destacar la importancia del hecho que el pico de LH induce a las células de la granulosa a la producción de sustancias que hacen más débil la unión intercelular en la propia pared de la granulosa (Atuesta y Diaza, 2011; Ungerfeld, 2002).

Los mecanismos que regulan la secreción de FSH durante el ciclo estral no están tan dilucidados como los que controlan la secreción de LH. Se cree que el aumento preovulatorio de FSH responde a los mismos controles que determinan el pico de LH, o sea una estimulación de la GnRH producto de un retrocontrol positivo con los estrógenos provenientes del ovario, aunque el aumento en la concentración de FSH se da antes que el aumento de la LH. Existe evidencia que demuestra que los estrógenos actúan estimulando solo a nivel hipotalámico quedando esto evidenciado ya que al bloquear la liberación de GnRH no ocurre el aumento de FSH por la estimulación de los estrógenos (Ungerfeld, 2002).

Luego de la ovulación se da la fase luteal del ciclo estral. Durante los primeros 3 – 4 días (conocidos como metaestro) ocurre la formación del cuerpo lúteo (llamado en este momento cuerpo hemorrágico) (Colazo y Mapletoft, 2014). Los niveles de

estrógenos durante la fase lútea permanecen bajos pero ocurren ligeros incrementos que son producto de la formación de nuevos folículos dominantes de las sucesivas ondas de crecimiento folicular (Quintela *et al.*, 2006).

En los siguientes días que son conocidos como diestro (presencia de cuerpo lúteo activo) se da un importante incremento en la concentración de progesterona en sangre por consecuencia de la secreción de ésta hormona por parte de las células luteinizadas de la granulosa y de la teca (Atuesta y Díaz, 2011; Colazo y Mapletoft, 2014). Sobre dichas células ocurren cambios tanto estructurales así como funcionales (proceso de luteinización) que inducen a secretar diferentes hormonas. La secreción de P4 aumenta más de 10 veces producto del incremento de las enzimas que controlan los precursores de la ruta esteroideogénica, a la vez que la producción de andrógenos y estrógenos disminuye como consecuencia de la disminución de las enzimas necesaria para su síntesis (Atuesta y Díaz, 2011; Ungerfeld, 2002).

La progesterona avanza a niveles detectables 3-4 días después del celo y alcanza sus niveles máximos entre los días 8 y 12 del ciclo. El cuerpo lúteo puede considerarse como una glándula, cuya única diferencia respecto a otras glándulas es su carácter transitorio. De esta forma se considera que el CL es una glándula transitoria, presente normalmente solamente durante una fase de los ciclos estrales y la gestación que se forma una vez ocurrida la ovulación por la proliferación de las células tanto de la teca como de la granulosa gracias a la estimulación de la hormona luteinizante (Atuesta y Díaz, 2011; Quintela *et al.*, 2006; Ungerfeld, 2002). La progesterona induce cambios en el útero para el establecimiento y mantenimiento de una posible gestación e impide la ovulación y el comportamiento de celo (Quintela *et al.*, 2006; Rippe, 2009).

Otro efecto de la P4 durante el ciclo estral es que es necesario un pre-tratamiento de los centros comportamentales del cerebro con ésta hormona, para que en conjunto con el posterior incremento en los niveles de estrógenos se manifieste el comportamiento de celo, siendo esto conocido como “priming de progesterona” (Ungerfeld, 2002).

Durante el diestro en el ovario hay aumento de tamaño folicular pero éstos no llegan a ovular por acción de la progesterona; la misma ejerce un mecanismo de retroalimentación negativa sobre la GnRH permitiendo que los pulsos de LH sean de mayor amplitud pero de frecuencia baja (1 pulso cada 3–4 horas) siendo esto inadecuado para que ocurra la ovulación del folículo dominante (Colazo y Mapletoft, 2014; Ungerfeld, 2002).

Pasados 12-14 días de exposición a una elevada concentración sérica de P4 y en ausencia de gestación, el cuerpo lúteo regresa como consecuencia de la secreción de prostaglandina F₂α (que estaba inhibida por la progesterona) secretada por el endometrio y que llega al ovario a través un mecanismo contra-corriente provocando la recesión tanto morfológica como funcional del cuerpo lúteo y da lugar al proestro (desde que comienza la luteólisis hasta el comienzo del celo) (Colazo y Mapletoft, 2014; Quintela *et al.*, 2006).

Hay evidencia de que la prostaglandina que sale del útero por la vena uterina pasa directamente a la arteria ovárica en la anastomosis arterio-venosa existente en los rumiantes. Es por esto que las concentraciones prostaglandina $F2\alpha$ que llegan al ovario sean altas, porque si pasara a la circulación sistémica, en cada pasaje por los pulmones se metabolizaría un 90%. Se puede afirmar entonces que este mecanismo a contracorriente es esencial para que se produzca la luteólisis aunque no es la única vía (Atuesta y Diaz, 2011; Ungerfeld, 2002).

El hecho de que el cuerpo lúteo permanezca o no depende de la relación entre factores luteotróficos y factores luteolíticos. La LH es el factor luteotrófico de mayor importancia determinando la formación del CL a través de su pico preovulatorio. Una de las formas por las que el cuerpo lúteo determina su propia lisis es inhibiendo los pulsos de LH ya que su principal secreción (progesterona) inhibe la secreción de LH (a través de la GnRH). El descenso en la concentración de LH no determina de por sí la luteólisis aunque sí podría facilitar la acción de la prostaglandina (principal sustancia luteolítica). Hay evidencia de que si se administra LH se incrementan los niveles de progesterona y se extiende la fase luteal (Ungerfeld, 2002).

La progesterona también actúa inhibiendo en el útero la síntesis de receptores hormonales para sí misma, para los estrógenos y para la oxitocina. Entonces sobre el día 15–16 del ciclo cuando se desencadena la luteólisis, dado la menor cantidad de receptores para sí misma en el útero, lleva a que también disminuya el control negativo de la progesterona sobre la síntesis de los receptores para estrógenos y oxitocina por lo que el efecto de éstas hormonas sobre el útero aumenta (Atuesta y Diaz, 2011; Ungerfeld, 2002).

Durante la luteólisis hay muerte progresiva de células luteales lo que lleva a que baje la concentración de P4 en sangre (Rippe, 2009; Ungerfeld, 2002).

La prostaglandina es secretada por el endometrio de un útero sobre el cual previamente y durante determinada cantidad de días ejerció su efecto la progesterona. Mientras transcurre la luteólisis ante cada pulso de prostaglandina el cuerpo lúteo secreta oxitocina y alrededor de un 50 % de estos pulsos de oxitocina generan respuesta endometrial a secretar prostaglandina. Dicho mecanismo de retroalimentación positivo se encuentra inhibido durante la primera parte de la fase lútea ya que la síntesis de receptores para la oxitocina es inhibida por la progesterona. Después que pasa el periodo en que la P4 es capaz de ejercer su efecto inhibitorio, el incremento en los niveles de estrógenos provenientes del folículo en desarrollo estimula el aumento de receptores para oxitocina en el útero y de esta forma se desencadena el mecanismo de retroalimentación positiva entre la oxitocina que secreta el CL y la prostaglandina de origen endometrial (Ungerfeld, 2002).

Teniendo en cuenta que para cuando se produce el aumento de los receptores para oxitocina en el útero todavía el cuerpo lúteo no fue estimulado a producirla, y aún el útero no ha secretado prostaglandina, el estímulo que desencadena el proceso de luteólisis proviene de la oxitocina hipofisaria, estimulando al endometrio, una vez que aumentaron sus receptores para oxitocina, a que secrete prostaglandina. De esta manera se genera un retrocontrol positivo que termina con la actividad del cuerpo lúteo (Atuesta y Diaz, 2011; Ungerfeld, 2002).

El proestro tiene una duración de 2-3 días y durante el mismo la caída en los niveles de progesterona permite un incremento en la frecuencia de los pulsos de GnRH y LH (1 pulso cada hora) que llevan a la maduración final del folículo ovulatorio y al incremento de los niveles de E2 que provoca el comportamiento sexual (estro) así como también lleva a que se produzcan los aumentos preovulatorios de GnRH y LH. Este incremento en los niveles de LH provoca la ovulación y la luteinización del folículo con la consecuente caída en la secreción de estradiol, dando inicio así a un nuevo ciclo (Colazo y Mapletoft, 2014; Ungerfeld, 2002).

Dinámica folicular ovárica

La mejora en la capacidad técnica para monitorear la concentración de las hormonas y sus receptores y de la ultrasonografía que hace posible evidenciar los cambios morfológicos han sido de suma importancia para lograr una mayor comprensión de la dinámica folicular en el bovino (Ungerfeld, 2002).

El primero en postular la idea de las ondas foliculares fue Rajakoski en una publicación del año 1960 (Rajakoski, 1960). Después de varias publicaciones tanto a favor como en contra de la teoría de ondas de Rajakoski, recién sobre finales de la década del 80 fue que, gracias a la incorporación de la ultrasonografía en tiempo real como método de estudio de la función ovárica, se demostró que en un altísimo porcentaje ($\geq 95\%$) de los ciclos estrales hay 2 o 3 ondas de crecimiento folicular (Knopf *et al.*, 1989; Savio *et al.*, 1988; Sirois y Fortune, 1988). En vaquillonas al momento de la pubertad y en vacas durante el primer intervalo interovulatorio postparto pueden darse ciclo estrales de una onda folicular (Colazo y Mapletoft, 2014). De manera ocasional en animales *bos indicus* se observan ciclos estrales de 4 ondas de crecimiento folicular (Rhodes *et al.*, 1995; Zeitoun, Rodriguez y Randel, 1996).

Existe una importante cantidad de investigaciones que demuestran que el crecimiento folicular en ondas ocurre en casi todas las etapas de la vida de la hembra bovina incluyendo el periodo prepuber, durante la gestación así como en el puerperio (Ungerfeld, 2002).

La proporción de animales con 2 o 3 ondas foliculares varía entre diferentes trabajos publicados, algunos autores reportaron que la mayoría ($>80\%$) de los ciclos fueron de 2 ondas (Ginther, Knopf *et al.*, 1989; Knopf *et al.*, 1989; Rajamahendram y Taylor, 1990; Sartori *et al.*, 2004), otros informaron una mayoría de 3 ondas (Bo *et al.*, 1993; Borges, Torres, Ruas, Rocha Júnior y Carvalho, 2001; Rhodes *et al.*, 1995; Savio *et al.*, 1988; Sirois y Fortune, 1988), mientras que otros han observado una distribución más uniforme (Adams y Pierson, 1995; Evans *et al.*, 1994; Savio *et al.*, 1990).

En diferentes trabajos realizados no se ha observado una clara preferencia de raza o edad para un patrón de onda de crecimiento folicular sobre el otro (Colazo y Mapletoft, 2014). Un trabajo realizado en 2011 en el cual se compararon ciclos estrales de animales *bos-indicus* y *bos-taurus* se observó que generalmente el reclutamiento folicular por onda es mayor en los *bos-indicus* que en los *bos-taurus*. A su vez también se constató un mayor número de ondas foliculares por ciclo a favor

de los primeros. Se observó que en los cebuinos el diámetro del folículo ovulatorio fue menor, por lo que el tamaño del cuerpo lúteo también fue menor con niveles circulantes de progesterona más bajos (Sartori y Barros, 2011).

En que refiere a la fertilidad aparentemente la misma no se ve afectada por el patrón de desarrollo folicular (Ungerfeld, 2002). En dos trabajos realizados se constató que la tasa de concepción al primer servicio fue menor en vacas en las cuales el folículo ovulatorio provenía de la segunda onda folicular en contraposición con vacas en las que la ovulación fue a raíz del folículo dominante de la tercera onda (Ahmad, Townsend, Dailey y Inskeep, 1997; Townson *et al.*, 2002). Esto podría tener su fundamento en que los folículos de los ciclos con 2 ondas de desarrollo folicular son más “viejos” al momento de la ovulación, alcanzando un mayor tamaño que los folículos de los ciclos de tres ondas (Ginther, Kastelic, y Knopf, 1989). Sin embargo en otro trabajo se constató que no hubo diferencias significativas en la tasa de preñez durante la lactancia de vacas lecheras con diferentes patrones de ondas de crecimiento folicular, aunque hubo una correlación negativa entre la fertilidad y el intervalo de tiempo que transcurre desde que emerge la onda folicular hasta la aparición del celo (Bleach, Glencross y Knight, 2004).

En un trabajo que se realizó para evaluar la incidencia de la estacionalidad sobre las los diferentes patrones de desarrollo folicular en animales de la raza Brahman (*Bos indicus*) se observó que un 20 % de los mismos presentaban ciclos de 4 ondas durante el otoño mientras que en la primavera dicho porcentaje bajaba a 4,5% (Zeitoun *et al.*, 1996).

Mediante una investigación sobre la influencia de la nutrición en la dinámica folicular se observó que animales que eran alimentados con una ración de baja energía tenían un porcentaje más alto de ciclos de 3 ondas foliculares en comparación con vacas a las cuales se les proporcionaba ración de alta energía (Murphy *et al.*, 1991). La razón evolutiva de un ciclo de 2 o 3 ondas, incluso el hecho en sí mismo de que el crecimiento folicular sea en ondas aún no está del todo claro, pero los diferentes perfiles de crecimiento de ondas foliculares tienen gran repercusión tanto sobre los diferentes protocolos para la sincronización de la ovulación así como para la superestimulación ovárica (Colazo y Mapletoft, 2014).

Patrón de crecimiento durante el desarrollo de los folículos antrales

En el ovario de la hembra bovina podemos encontrar una población folicular muy diversa. Tomando en cuenta sus características estructurales podemos encontrar tres tipos de folículos. Folículos primordiales, de los cuales encontramos gran cantidad, folículos preantrales (entre 100 y 1000) y folículos antrales (50-300). La población de folículos antrales a su vez puede ser separada en 2 grupos en base a su respuesta a las gonadotropinas encontrando entonces folículos sensibles a las gonadotropinas (Gn-sensibles) y folículos dependientes de la gonadotropinas (Gn-dependientes). Los Gn-sensibles tienen 1 a 3 mm de diámetro y cuando hay un aumento en los niveles de FSH estos folículos comienzan a crecer. Los folículos Gn-

dependientes son los que sufren atresia cuando hay una caída en la concentración de FSH (Quintela *et al.*, 2006).

En el transcurso del desarrollo de los folículos antrales hay 2 fases de crecimiento. La fase de crecimiento “lenta” que va desde la adquisición del antro hasta que alcanzan un tamaño suficiente para ser visualizados mediante ultrasonografía (3 mm aproximadamente) la cual tiene una duración de de más de 30 días. La fase de crecimiento “rápida” que comprende desde la emergencia de la onda folicular hasta la ovulación o la atresia del folículo dominante (Quintela *et al.*, 2006).

Todavía no hay evidencia suficiente para saber si el desarrollo folicular en sus primeras etapas es posible sin la FSH aunque se ha podido demostrar la presencia y funcionalidad de receptores de FSH durante el desarrollo pre-antral y antral temprano lo que estaría sugiriendo la importancia de esta hormona en el desarrollo folicular. A su vez en otro trabajo se demostró que folículos de laucha incapaces de responder a la FSH no progresan hacia estados antrales (Colazo y Mapletoft, 2014). En cambio hay varios trabajos que demuestran que en la fase de crecimiento “rápido” los folículos dependen de los niveles de FSH y LH (Ginther, Kot, Kulick, Martin y Wiltbank, 1996; Ginther, Wiltbank, Fricke, Gibbons y Kot, 1996).

En el inicio de una onda de desarrollo folicular hay un desarrollo sincrónico de un grupo de folículos antrales (Gn-sensibles) que se da en ambos ovarios al mismo tiempo como respuesta a un incremento en los niveles de FSH (Quintela *et al.*, 2006). En este momento se observa el crecimiento de un número variable (de 8 a 41) de folículos identificables por ultrasonografía a partir de los 3 o 4 mm de diámetro (Ginther, Kastelic, *et al.*, 1989). Durante los primeros 2 o 3 días todos los folículos de la onda presentan una tasa de crecimiento similar, luego se dará el proceso de selección mediante el cual uno de los folículos continuará con el crecimiento, convirtiéndose en folículo dominante, mientras que el resto se vuelven atrésicos y regresan siendo estos los folículos subordinados (Colazo y Mapletoft, 2014; Ungerfeld, 2002). Durante la etapa final de la oleada se da la dominancia durante la cual el folículo seleccionado continúa con su desarrollo mientras que los subordinados completan el proceso de atresia. El destino del folículo dominante depende de los niveles séricos de progesterona. Si su presencia coincide con la regresión del cuerpo lúteo completará la maduración y ovulará y en caso contrario su destino será la atresia (Quintela *et al.*, 2006).

La aparición de la primera onda ocurre constantemente, de manera independiente al tipo de patrón de desarrollo folicular, el día de la ovulación (designado como día 0). La segunda onda aparece el día 9 o 10 en los animales con ciclos de 2 ondas y en el día 8 o 9 en los ciclos de 3 ondas (Ginther, Knopf *et al.*, 1989). El folículo dominante de la primera será anovulatorio ya que el desarrollo de esta ocurre durante la fase luteal presentando una fase de crecimiento (días 0 a 6), una fase estática (días 6 a 12) y una fase de regresión (a partir del día 12) (Ginther, Kastelic, *et al.*, 1989). El folículo dominante de la primer onda en ciclos de 2 y 3 ondas presenta similares características pero la emergencia de la segunda onda se da 1 a 2 días antes en los animales con ciclos de 3 ondas que en los de 2 ondas (Bo *et al.*, 1993; Ginther, Knopf *et al.*, 1989). En los ciclos de 3 ondas la emergencia de la tercera onda ocurre

el día 15 o 16. En el caso de los ciclos estrales de 4 o más ondas, observados ocasionalmente en animales *bos indicus*, la cuarta onda comienza el día 20 o 21 (Bo *et al.*, 1993; Zeitoun *et al.*, 1996). Las ondas foliculares sucesivas serán anovulatorias mientras no se desencadene la luteólisis, por lo tanto el folículo dominante presente cuando se desencadena la misma se convertirá en el folículo ovulatorio y la emergencia de la siguiente onda se retrasa hasta el día en el que se da la ovulación (Colazo y Mapletoft, 2014; Ungerfeld, 2002).

El crecimiento folicular es mayor en el ovario en el que se encuentra el cuerpo lúteo en comparación con el ovario contralateral, por lo que se piensa que el CL favorece el desarrollo folicular ejerciendo un mecanismo de naturaleza intraovárica (Quintela *et al.*, 2006).

El cuerpo lúteo comienza a regresar más temprano en los ciclos de 2 ondas (día 16) que en los animales con ciclos de 3 ondas (día 19) (Ginther, Kastelic, *et al.*, 1989) por lo que la duración del ciclo estral depende fundamentalmente de su patrón de desarrollo folicular siendo de 18 a 20 días en los de 2 ondas, de 21 a 23 días para los de 3 ondas y de 24 a 25 días en el caso de los de 4 (Colazo y Mapletoft, 2014; Ungerfeld, 2002). Por lo tanto el ciclo clásico con una duración de 21 días seguramente sea resultado del promedio entre los ciclos estrales de 2 y 3 ondas foliculares (Colazo y Mapletoft, 2014).

Interrelaciones endócrinas y foliculares en el desarrollo de la onda folicular

En el caso del bovino la naturaleza ha desarrollado una estrategia que hace posible que un folículo siga creciendo y sea potencialmente capaz de ovular, a la vez que minimiza el desgaste de folículos del pool de reserva suprimiendo el reclutamiento folicular entre ondas. (Colazo y Mapletoft, 2014; Ungerfeld, 2002). Existe evidencia de que antes de la emergencia de cada onda folicular hay un incremento en los niveles de FSH responsable de inducir el reclutamiento folicular de una onda, por lo que en los ciclos de dos ondas se observan 2 picos de FSH y 3 picos en los de 3 ondas (Adams, Matteri, Kastelic, Ko y Ginther, 1992).

El mecanismo a través del cual un folículo es seleccionado y se vuelve dominante y al mismo tiempo provoca la regresión del resto de los folículos no está completamente dilucidado. La relación existente entre los niveles de FSH y el desarrollo folicular podría explicar dicho mecanismo. En el momento en el cual se diferencia el perfil de crecimiento del folículo dominante del de los folículos subordinados (momento de la divergencia o desviación) los niveles de FSH sufren una importante caída (Colazo y Mapletoft, 2014; Ungerfeld, 2002). Esto ocurre a los 2,8 días en promedio de la emergencia de la onda folicular, cuando el folículo dominante mide 8,5 mm aproximadamente (Ginther, Wiltbank *et al.*, 1996). Estos niveles de FSH son insuficientes para el desarrollo de los folículos subordinados que, por lo tanto, se vuelven atrésicos mientras que el folículo dominante adquiere la capacidad de continuar desarrollándose con niveles bajos de FSH (Ginther, 2000). El incremento transitorio en los niveles de FSH permite suficiente desarrollo folicular para que algunos (no todos) folículos se vuelvan capaces de responder a la LH,

adquiriendo la capacidad de sobrevivir sin FSH (Ginther, Wiltbank *et al.*, 1996). Las hormonas que producen los folículos emergentes (estradiol-17 β e inhibina principalmente) actúan vía sistémica provocando un feedback negativo suprimiendo los niveles circulantes de FSH (Colazo y Mapletoft, 2014; Ungerfeld, 2002). Según un trabajo realizado en 1999 todos los folículos en desarrollo secretarían inhibina mientras que el estradiol sería secretado por el folículo dominante principalmente (Kulick, Kot, Wiltbank y Ginther, 1999). La supresión periódica de FSH inhibe el reclutamiento continuo de folículos antrales, de los cuales el 99 % se atresian (Ginther, Wiltbank *et al.*, 1996).

El motivo por el cual el folículo destinado a convertirse en dominante puede continuar con el desarrollo con bajos niveles de FSH mientras que los subordinados se encaminan a la atresia puede deberse a la síntesis de receptores para LH en las células de la granulosa del folículo dominante (Ginther, Wiltbank *et al.*, 1996). En todos los folículos se encuentran receptores para LH en las células de la teca y receptores para FSH en las células de la granulosa pero únicamente el folículo dominante es capaz de sintetizar receptores para LH en la granulosa. Existe evidencia que a partir del 4 día de la onda, cuando el folículo dominante alcanzó un diámetro de 8 mm aproximadamente, hay un importante aumento en la cantidad de receptores de LH (Ungerfeld, 2002). La LH al unirse a los receptores de las células de la granulosa estimula la secreción de estradiol, por lo que el folículo puede seguir creciendo a pesar de que disminuya la concentración sérica de FSH. Por tanto se puede afirmar que el folículo dominante mayor a 8 mm de diámetro se vuelve FSH independiente pero LH dependiente (Ginther, Beg, Bergfelt, Donadeu y Kot, 2001).

La capacidad de responder a la LH y la capacidad de convertirse en folículo dominante no parece ser un proceso de todo o nada y probablemente sea más una diferencia cuantitativa y no una diferencia absoluta entre los folículos de una onda. Los folículos subordinados pueden ser “rescatados” y volverse dominantes si el folículo dominante original es removido (Adams, Kot, Smith y Ginther, 1993a; Ko, Kastelic, Del Campo y Ginther, 1991) o si en el momento de la desviación folicular se administra FSH exógena (Adams, Kot, Smith y Ginther, 1993b). En este último estudio también se observó que cuando existe competencia por la LH entre múltiples folículos dominantes (en animales a los que se les administró FSH) el diámetro máximo alcanzado en estos folículos fue menor si se los compara con folículos dominantes únicos (Adams *et al.*, 1993b).

Cada vez se encuentra más evidencia de que el sistema de factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-I) puede ser muy importante en la selección del folículo dominante. Estos factores mantienen el crecimiento folicular estimulando la proliferación de las células de la granulosa y promueven, en conjunto con las gonadotrofinas, la diferenciación de las células de la granulosa y de la teca. Entonces, aquellos folículos con mayores concentraciones de IGF disponibles en su líquido folicular tienen mayores probabilidades de convertirse en folículo dominante (Colazo y Mapletoft, 2014). Sin embargo, se sigue sosteniendo que los efectos supresivos del folículo dominante sobre los subordinados se ejercen, principalmente,

por canales sistémicos más que por canales autócrinos o parácrinos (Ginther, Wiltbank *et al.*, 1996).

El fenómeno de regresión del folículo dominante de las ondas anovulatorias y el comienzo de la próxima onda folicular (conocido como “recambio folicular”) también puede ser explicado por la relación entre los niveles de LH y el crecimiento folicular. Al aumentar la concentración de progesterona debido al desarrollo del cuerpo lúteo durante la fase luteal, la secreción de LH se suprime y esto causa que el folículo dominante cese sus funciones metabólicas y se encamine a la atresia. El cese de la secreción de estradiol e inhibina, aún antes de observarse una disminución en el tamaño del folículo dominante, produce un nuevo incremento en los niveles de FSH. Este aumento no ejerce ningún efecto sobre el folículo dominante que comenzó la regresión, pero si provoca el reclutamiento de folículos de la siguiente onda folicular (Colazo y Mapletoft, 2014; Ungerfeld, 2002).

Hacia el final del ciclo, cuando se da la luteólisis por la acción de la prostaglandina, caen los niveles de progesterona y esto hace posible que se incremente la frecuencia de pulsos de LH. Este aumento de la frecuencia de pulsos de LH estimula un mayor crecimiento del folículo dominante y aumento de la secreción de E2, lo que llevará, a través de un feedback positivo, al pico de LH seguido de la ovulación (Colazo y Mapletoft, 2014; Ungerfeld, 2002).

ECOGRAFÍA

Historia e introducción

Una de las principales aplicaciones de la ultrasonografía en veterinaria es en el área de reproducción, donde ha sido uno de los métodos más útiles para esclarecer varios aspectos reproductivos en varias especies pero particularmente en el ganado bovino. Los primeros estudios se realizaron en 1972 por Indahl, que mediante ecografía transabdominal realizó diagnóstico de gestación en ovejas y cerdas. En los años 80 se comenzaron a realizar estudios vía transrectal en reproducción equina, lo que ayudó a comprender mejor su fisiología contribuyendo a mejorar su productividad. A partir de 1983 la ultrasonografía empezó a utilizarse como herramienta de control reproductivo en bovinos (Giraldo, 2003; Quintela *et al.*, 2006). En materia de reproducción la ecografía tiene varias utilidades, como por ejemplo realizar una evaluación de la dinámica folicular, desarrollo del cuerpo lúteo, valoración del estado uterino, evaluar el desarrollo embrionario-fetal, diagnosticar precozmente la preñez, determinar el sexo del feto, entre otros (Giraldo, 2003; Pierson y Ginther, 1988; Quintela *et al.*, 2006; Torres, 2012).

Bases de la ecografía

La ultrasonografía es una técnica de diagnóstico por medio de imágenes que se basa en la emisión de ultrasonidos a través de cristales piezoeléctricos y la recepción de los ecos producidos por la reflexión de los ultrasonidos a medida que viajan por los diferentes tejidos (Bellenda, 2003; Quintela *et al.*, 2006; Torres, 2012). Estos sonidos resultan del recorrido de la energía mecánica a través de la materia en forma de ondas que hace que se produzcan, de manera alternada, fenómenos de compresión y rarefacción (Quintela *et al.*, 2006).

El ultrasonido está definido por tres características que son: Frecuencia, longitud de onda y velocidad. La frecuencia en que son emitidas y la longitud de las ondas, son inversamente proporcionales. La máquina de ultrasonidos utiliza ondas de sonido de alta frecuencia que por lo general se encuentra entre 1 a 10 MHz (Giraldo, 2003; Quintela *et al.*, 2006).

De acuerdo al formato de imagen obtenido tenemos modo A (amplitud), modo B (brillo) y modo M (movimiento). El modo A es el más sencillo y fue el primero que se utilizó. El resultado se observa como una serie de picos en un gráfico, según la variación en la amplitud del eje X. En veterinaria se utiliza principalmente para medir la cantidad de grasa subcutánea en cerdos. El modo M es la visualización continua en el tiempo de un corte fino de un órgano, obteniendo una imagen unidimensional representada en un eje vertical respecto al tiempo en un eje horizontal. Se utiliza principalmente en ecocardiografía (Giraldo, 2003; Quintela *et al.*, 2006). En el modo B como resultado de los ecos obtenemos pixeles o puntos de brillo, entonces a mayor reflexión más brillante será el punto y en una posición que se corresponde con el tiempo que tardaron en ser recibidos. El resultado es una imagen obtenida por el conjunto de puntos de brillo. En la actualidad éste es el modo de mayor utilización con fines diagnósticos (Giraldo, 2003; Quintela *et al.*, 2006; Torres, 2012).

Según la capacidad de los tejidos para producir ecos se denomina ecogénico o ecoico al tejido que produce reflexión hacia el transductor de gran parte del sonido, apareciendo en la pantalla como áreas de color blanco (huesos). Por otro lado el tejido que no produce eco hacia el transductor, transmitiendo todo el sonido hacia tejidos más profundos y se observan como un área de color negra, es denominado anecoico o anecogénico. Los tejidos blandos no solo se observan en blanco o negro sino que aparecen como imágenes en distintas escalas de grises (Giraldo, 2003; Quintela *et al.*, 2006).

En el área de reproducción de la medicina veterinaria los ecógrafos más utilizados son Scanners de modo B y tiempo completo, generando una imagen en un corte anatómico bidimensional que se actualiza de manera continua, brindando una imagen instantánea de los tejidos scaneados (Giraldo, 2003; Quintela *et al.*, 2006; Torres, 2012).

Las sondas que se utilizan generalmente son de 3.5, 5 o 7.5 MHz lineales o sectoriales en donde hay que tener en cuenta que a mayor frecuencia mejor imagen pero disminuye la penetración en los tejidos. El transductor sectorial brinda una imagen tipo pirámide mientras que con el lineal se obtiene una imagen rectangular.

En reproducción bovina por lo general se utilizan sondas lineales de 5 o 7.5 MHz (Giraldo, 2003; Quintela *et al.*, 2006; Torres, 2012).

Examen ecográfico del sistema reproductor

Útero

Para examinarlo en toda su extensión podemos realizar cortes transversales, longitudinales y oblicuos. Ecográficamente la imagen que obtendremos del mismo depende de si tiene o no contenido. En un animal no gestante que se encuentre sano lo normal sería un útero prácticamente sin contenido, salvo durante el celo o cerca del mismo, momento en que aumenta la cantidad de líquido en la luz uterina. Por lo tanto lo que se observa es una zona fina anecogénica en la zona central (luz del útero, durante el celo aumenta su tamaño), luego el endometrio que se ve como un área gris y rodeando a éste otra capa anecoica fina (vasos sanguíneos), rodeada a su vez por otra área gris que es el miometrio y perimetrio (Bellenda, 2003; Quintela *et al.*, 2006; Torres, 2012).

La ultrasonografía es de mucha utilidad en el diagnóstico de estados patológicos como piómetra, metritis, salpingitis, hidrosalpix, entre otras (Torres, 2012).

Ovarios

En el examen ecográfico de los ovarios las estructuras fisiológicas que podemos observar son los folículos y el cuerpo lúteo. Los folículos se observan como estructuras no ecogénicas de forma redondeada u ovalada y que normalmente no hacen prominencia sobre la superficie ovárica, siendo la medida que obtenemos correspondiente al antro folicular. El cuerpo lúteo se muestra como una imagen de forma circular, en un tono gris oscuro (no ecogénica), más o menos prominente sobre la superficie del ovario. De manera fisiológica y con una frecuencia variable (30 a 80%) se pueden encontrar cuerpos lúteos cavitarios en los que se puede observar una cavidad central que se muestra como un área no ecogénica (negra) rodeada de tejido luteal. En el interior del cuerpo lúteo también se puede evidenciar la presencia de trabéculas que se aprecian como una banda hiperecogénica (blanca) que atraviesa el tejido luteal (Bellenda, 2003; Quintela *et al.*, 2006; Torres, 2012).

Las utilidades más importantes del examen ecográfico de los ovarios son el control de reinicio de la actividad ovárica posparto, identificar el momento del ciclo estral, estimar la respuesta a los tratamiento de inducción y sincronización de celo, optimizar los tratamientos de superovulación y evidenciar la presencia de estructuras patológicas como quistes (luteales o foliculares) o tumores (Bellenda, 2003; Giraldo, 2003; Quintela *et al.*, 2006).

HIPÓTESIS

Nuestra hipótesis es que diferentes parámetros como duración del ciclo estral, tamaño del cuerpo lúteo, día de regresión del cuerpo lúteo y de emergencia de las ondas, tamaño máximo de los folículos preovulatorios y tasa de crecimiento de los folículos tienen resultados similares independientemente del número de ondas foliculares del ciclo estral.

OBJETIVOS GENERALES

Nuestro objetivo es realizar dinámica folicular durante un ciclo estral en la vaca, para obtener un registro de datos del ciclo estral bovino en nuestras condiciones.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar número de ondas foliculares, duración del ciclo, tamaño del cuerpo lúteo, día de regresión del cuerpo lúteo y de emergencia de las ondas, tamaño máximo de los folículos preovulatorios y tasa de crecimiento de los folículos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fecha y ubicación

El trabajo de campo se realizó entre el 12 de Marzo y el 21 de Abril de 2014, en el campo experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria ubicado a la altura del km 42,5 de la ruta nacional N°1 en Libertad, San José, Uruguay (34°40'56''S 56°32'22''W)

Animales

Para el ensayo se utilizaron vacas raza Holstein, Jersey y Kiwi, de entre 5 y 7 años de edad (boca llena), con una condición corporal de $3,5 \pm 0,5$ según la escala utilizada para ganado lechero (Edmonson, Lean, Weaver, Farver y Webster, 1989). Durante el ensayo los animales se alimentaron a campo natural con una carga de 0.8 UG por hectárea con buena disponibilidad de forraje, agua ad libitum y contaban con sombra (Figura 3). Las vacas que se utilizaron para el trabajo no estaban gestadas ni en ordeño.



Figura 3: Imagen de los animales participantes del ensayo a campo natural.

Manejo farmacológico

A efectos de lograr una concentración de los celos se administraron 2 dosis de prostaglandina F2 α (2 ml i/m de Dalmaprost-D, Fatro, equivalentes a 150 mg de Cloprostrenol dextrógiro) con un intervalo de 14 días entre la primera y la segunda dosis (12/3/14 y 26/3/14 respectivamente).

Trabajo de campo

A partir del día siguiente de la segunda dosis de prostaglandina F2 α se observó la manifestación de signos de celo 2 veces por día durante 1 hora (entre las 7 y las 8 en la mañana y entre las 17 y las 18 en la tarde) durante 5 días (Figuras 4, 5 y 6). Se tuvieron en cuenta los siguientes signos: inquietud, descarga vaginal mucosa, presencia de marcas por roce en el anca, la monta a otro animal y la aceptación de la monta, siendo este último el signo determinante de ingreso al trabajo. De un total de 12 animales que recibieron las 2 dosis de prostaglandina, 8 fueron los que manifestaron signos de celo en los 5 días posteriores a la segunda dosis y pasaron a formar parte del ensayo. Los animales fueron identificados mediante caravanas de uso interno del establecimiento.



Figura 4, 5, y 6: Observación de manifestación de signos de celo después de la segunda dosis de prostaglandina.

Registro ecográfico

El día del celo (día 0 del ciclo estral) se comenzó el seguimiento ecográfico de los ovarios. Se realizaron ecografías, vía transrectal, todos los días en la mañana de las 8 vacas participantes durante un ciclo estral completo (de celo a celo), donde se evaluó el estado de los ovarios y se tomó la medida del diámetro del cuerpo lúteo y de los folículos presentes en cada uno de los ovarios (Figura 7) También se tomó registro de observaciones como tono del útero, presencia de contenido en el útero y presencia de corrimiento vulvar. El equipo utilizado para realizar las ecografías fue un Aloka SSD-500 con una sonda lineal de 5 MHz.



Figura 7: Imágenes ecográficas obtenidas durante el trabajo

Procesamiento de datos

Todos los datos obtenidos en el trabajo de campo fueron registrados de manera manual en planillas diseñadas para tal fin, que luego fueron digitalizadas (Microsoft Office Word 2007) (Anexo 1). También se realizó, para cada una de las vacas, una gráfica con la medida del folículo dominante de cada onda folicular en función del día del ciclo estral (Microsoft Office Excel 2007) (Figuras 8 a 15). Se calculó media y desvío estándar para cada parámetro reproductivo. También se compararon los parámetros entre los animales con dos ondas vs tres ondas a través de la prueba T para dos muestras suponiendo varianzas iguales, definido mediante una prueba f para varianzas de dos muestras.

RESULTADOS

Ondas foliculares

Se observaron ciclos con 3 ondas de desarrollo folicular en un 62,5 % (n=5) de los casos y ciclos con 2 ondas en un 37,5 % (n=3).

Duración del ciclo

La duración de los ciclos tuvo una media de 19 ± 1 días para los ciclos de 2 ondas y $22,2 \pm 0,4$ días en el caso de los de 3 ondas. La duración del ciclo fue diferente según el número de ondas foliculares ($P < 0,001$).

Regresión del cuerpo lúteo

En este trabajo se observó que el cuerpo lúteo comenzó su regresión el día 15 ± 0 cuando el ciclo presentó 2 ondas y el día $18,6 \pm 0,5$ en los ciclos con 3 ondas. Si bien numéricamente el día de regresión del CL fue diferente entre en el grupo de dos ondas en comparación de tres ondas, estadísticamente la diferencia no es significativa.

Emergencia de las ondas

Las ondas foliculares emergieron los días 0 ± 0 y $9,7 \pm 0,6$ en los ciclos de 2 ondas y los días 0 ± 0 , $8,2 \pm 0,4$ y $15,2 \pm 0,4$ en ciclos de 3 ondas.

Tamaño folículos

Los diámetros máximos alcanzados por el folículo preovulatorio fue de 18 ± 2 mm y de 15 ± 1 mm para ciclos de 2 y 3 ondas respectivamente. Los folículos preovulatorios en las vacas con dos ondas foliculares fueron mayores que los folículos de las vacas con tres ondas foliculares ($P < 0,05$).

Tasa de crecimiento

Los folículos dominantes tuvieron una tasa de crecimiento de $1,62 \pm 0,19$ mm/día cuando el ciclo fue de tres ondas foliculares y de $1,55 \pm 0,28$ mm/día en los de 2.

Tamaño cuerpo lúteo

En el caso del cuerpo lúteo el diámetro máximo alcanzado fue de 29 ± 1 mm en ciclos de 2 ondas y de $25 \pm 0,7$ mm en el caso de los de 3 ondas. El diámetro máximo del CL fue mayor para las vacas con ciclos de dos ondas comparados con las vacas de tres ondas foliculares ($P < 0,001$).

VACA CARAVANA 036

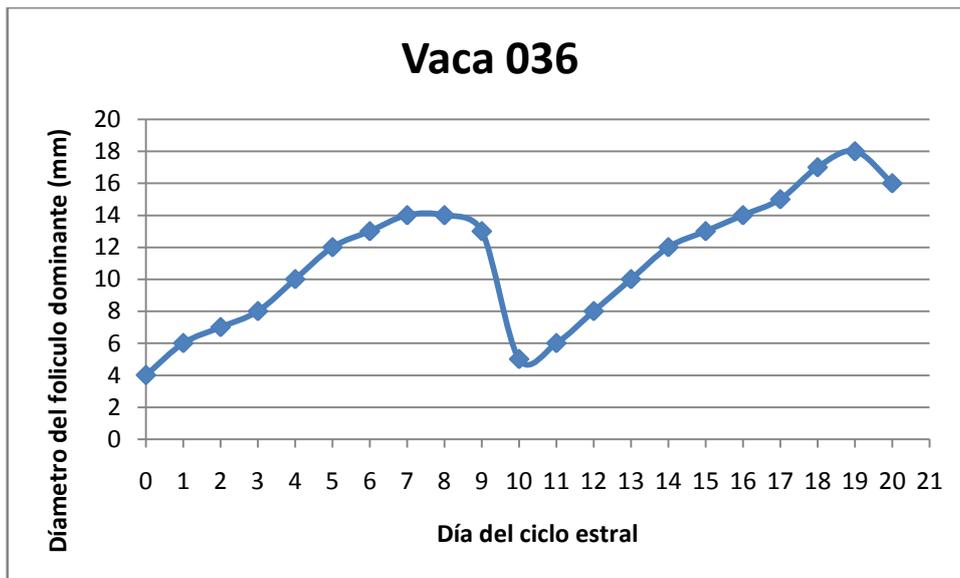


Figura 8: Grafico vaca 036

VACA CARAVANA 954



Figura 9: Gráfico vaca 954

VACA CARAVANA 837



Figura 10: Gráfico vaca 837

VACA CARAVANA 116



Figura 11: Gráfico vaca 116

VACA CARAVANA 952



Figura 12: Gráfico vaca 952

VACA CARAVANA 831

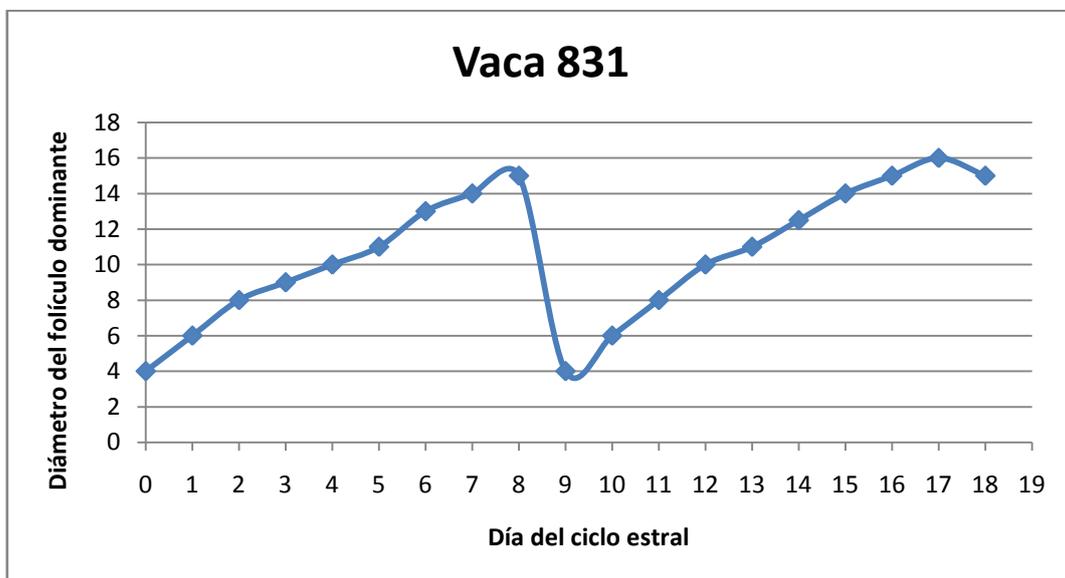


Figura 13: Gráfico vaca 831

VACA CARAVANA 916

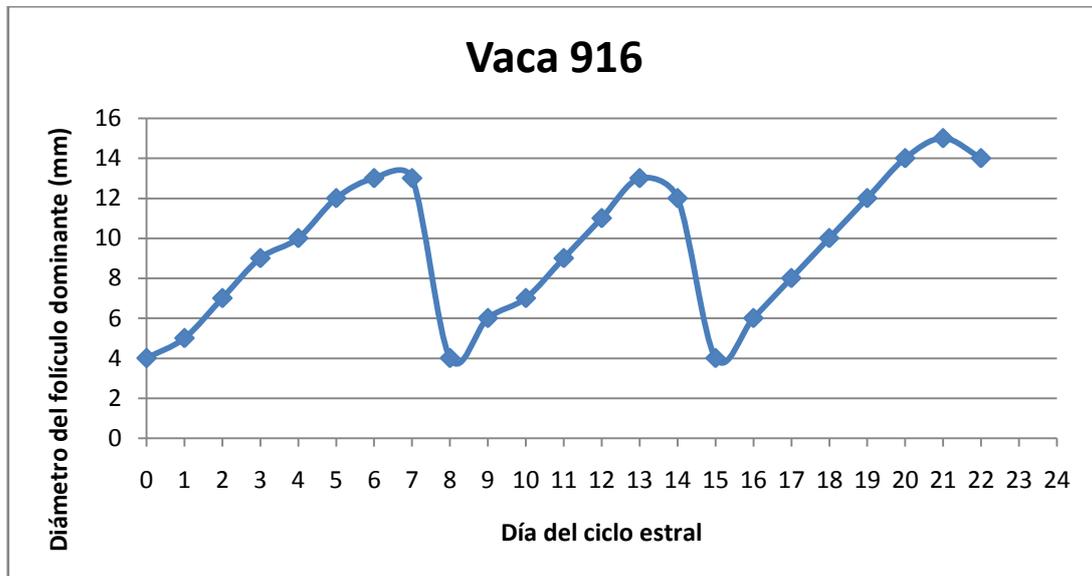


Figura 14: Gráfico vaca 916

VACA CARAVANA 114



Figura 15: Gráfico vaca 114

DISCUSIÓN

Desde que Rajakoski en 1960 reportó 2 ondas de crecimiento folicular durante el ciclo estral se han llevado a cabo numerosos trabajos para estudiar la dinámica folicular. La proporción de animales con 2 o 3 ondas foliculares varía entre diferentes trabajos publicados. Knopf et al., 1989, Rajamahendram y Taylor, 1990 y Sartori et al., 2004 reportaron que la mayoría de ciclos estrales presentan 2 ondas de crecimiento folicular en concordancia con lo publicado por Rajakoski, 1960. En nuestro trabajo observamos una supremacía de ciclos de 3 ondas foliculares (5 ciclos; 62,5 %) sobre ciclos con 2 ondas (3 ciclos; 37,5 %), igual que lo observado por Bo et al., 1993; Borges et al., 2001 y Savio et al., 1988.

El número de ondas que presenta el ciclo estral está asociado a la duración del mismo y con la duración de la fase lútea (Fortune, 1993). Según lo observado por Fortune, Sirois, Turzillo y Lavoisier, 1991 se observan nuevas ondas de crecimiento folicular si se extiende la fase lútea por la administración de progesterona exógena. Vimos que la duración del ciclo fue menor para los ciclos de 2 ondas en comparación con los de 3 siendo de 19 ± 1 y $22,2\pm 0,4$ días respectivamente. Resultados similares fueron obtenidos por Borges et al., 2001 y Ginther, Knopf et al., 1989. En nuestro ensayo observamos también que el cuerpo lúteo comenzó su regresión antes (día 15) cuando el ciclo tiene 2 ondas que cuando presenta 3 ondas (día 18,6) igual que lo publicado por Ginther, Kastelic, et al., 1989.

En nuestro trabajo las ondas foliculares emergieron los días 0 ± 0 y $9,7\pm 0,6$ y los días 0 ± 0 , $8,2\pm 0,4$ y $15,2\pm 0,4$ en ciclos de 2 y 3 ondas respectivamente. Esto coincide con lo publicado por otros autores en trabajos similares como por ejemplo Bo et al., 1993; Borges et al., 2001 y Ginther, Knopf et al., 1989.

En cuanto al diámetro máximo alcanzado por el folículo preovulatorio constatamos que fue mayor cuando el ciclo presentó 2 ondas (18 ± 2 mm) que cuando presentó 3 ondas (15 ± 1 mm) en concordancia por lo reportado por Borges et al., 2001 y Savio et al., 1988.

Los folículos dominantes tuvieron una tasa de crecimiento de $1,62\pm 0,19$ mm/día cuando el ciclo fue de tres ondas foliculares y de $1,55\pm 0,28$ mm/día en los de 2, coincidiendo con lo informado por Borges et al., 2001; Fortune, Sirois y Quirk, 1988; Murphy, Boland y Roche, 1990 y Savio et al., 1988.

Aunque estadísticamente el día que comenzó la regresión del cuerpo lúteo fue el mismo tanto para ciclos de dos o tres ondas foliculares, el tamaño del cuerpo lúteo si se vio afectado según el patrón folicular del ciclo ya que el diámetro máximo alcanzado fue mayor en los ciclos de 2 ondas de crecimiento folicular (29 ± 1 mm) que en los de 3 ondas ($25\pm 0,7$ mm). Este menor tamaño del cuerpo lúteo para los ciclos de 3 ondas seguramente esté asociado al menor tamaño alcanzado por el folículo preovulatorio en ciclos con éste patrón de crecimiento con respecto a los ciclos de 2 ondas. Vasconcelos, Sartori, Oliveira, Guenther y Wiltbank, 2001 observaron que el tamaño alcanzado por el cuerpo lúteo, y por tanto los niveles séricos de progesterona, están influenciados por el tamaño del folículo en el momento de la ovulación.

CONCLUSIONES

Se cumplió con el objetivo de generar datos nacionales sobre el ciclo estral bovino bajo nuestras condiciones pastoriles.

Los resultados obtenidos sobre la dinámica folicular ovárica durante el ciclo estral fueron, en líneas generales, coincidentes con los obtenidos en trabajos similares publicados a nivel internacional tanto en condiciones pastoriles como en confinamiento, aunque para fortalecer estos resultados sabemos que tendríamos que haber utilizado un n más grande.

Mediante seguimiento ecográfico se observaron los cambios que sufren los ovarios y las estructuras ováricas presentes durante un ciclo estral completo en la hembra bovina, lo que nos brinda la posibilidad de comprender y tener mayor control sobre el mismo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, G.P., Jaiswal, R., Singh, J., y Malhi, P. (2008). Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*, 69,72-80.
- Adams, G.P., Kot, K, Smith, C.A., y Ginther, O.J. (1993a). Effect of the dominant follicle on regression of its subordinates in heifers. *Canadian Journal of Animal Science*, 73, 267-275.
- Adams, G.P., Kot, K., Smith, C.A., y Ginther, O.J. (1993b). Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. *Animal Reproduction Science*, 30,259-271.
- Adams, G.P., Matteri, R.L., Kastelic, J.P, Ko, J.C.H., y Ginther, O.J. (1992). Association between surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*, 94,177-188.
- Adams, G.P., y Pierson, R.A. (1995). Bovine model for study of ovarian follicular dynamics in humans. *Theriogenology*, 43,113-120.
- Ahmad, N., Townsend, E.C., Dailey, R.A., y Inskeep, E.K. (1997). Relationships of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three waves of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cows and heifers. *Animal Reproduction Science*, 49,13-28.
- Atuesta, J., y Diaza, A.G. (2011). Control hormonal del ciclo estral en bovinos y ovinos. *Revista Spei Domus*, 7(14), 15 - 25.
- Bellenda, O.G. (2003). *El ultrasonido o ecografía aplicados en la reproducción animal*. Recuperado de <https://1library.co/document/yrkndojz-ultrasonido-ecografia-aplicados-reproduccion-animal.html>
- Bleach, E.C.L., Glencross, R.G., y Knight, P.G. (2004). Association between ovarian follicle development and pregnancy rate in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles. *Reproduction*, 127,621-629.
- Bo, G.A, Martinez, M., Nasser, L.F, Caccia, M., Tribulo, H., y Mapletoft, R.J. (1993). Follicular dynamics in *Bos-indicus* and *Bos-taurus* beef cattle under pasture conditions in Argentina. *Congreso Brasileiro de Reproducción Animal*, 10(2), 221.
- Borges, Á. M., Torres, C.A.A., Ruas, J.R.M., Rocha Júnior, V.R., y Carvalho, G.R. (2001). Dinâmica folicular ovariana em novilhas mestiças Holandês-Zebu. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 53, 595-604.
- Colazo, M.G., y Mapletoft, R. (2014). Fisiología del ciclo estral bovino. *Ciencia Veterinaria*, 16(2), 31-46.

- Delgado, P.A.M., Cuéllar, N.R., Sánchez, C.M.G., y Rojas, E.C.C. (2011). Dinámica folicular en la vida reproductiva de la hembra bovina. *Veterinária e Zootecnia*, 5(2), 88-99.
- Edmonson, A.J., Lean, I.J., Weaver, L.D., Farver, T., y Webster, G.(1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 72(1), 68-78.
- Evans, A.C.O., Adams, G.P., y Rawlings, N.C. (1994). Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepubertal heifers. *Reproduction*, 100(1), 187-194.
- Fernandez, A. (2003). *Dinámica Folicular: Funcionamiento y Regulación*. Recuperado de https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/23-ondas_foliculares.pdf
- Fortune, J. E. (1993). Follicular dynamics during the bovine estrous cycle: a limiting factor in improvement of fertility?. *Animal Reproduction Science*, 33(1-4), 111-125.
- Fortune, J.E., Sirois, J., y Quirk, S.M. (1988). The growth and differentiation of ovarian follicles during the bovine estrous cycle. *Theriogenology*, 29(1), 95-109.
- Fortune, J.E., Sirois, J., Turzillo, A.M., y Lavoit, M. (1991). Follicle selection in domestic ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, 43(1), 187-98.
- Ginther, O. (2000). Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reproduction Science*, 60, 61-79.
- Ginther, O.J., Beg, M.A., Bergfelt, D.R., Donadeu, F.X., y Kot, K. (2001). Follicle selection in monovular species. *Biology of Reproduction*, 65(3), 638-647.
- Ginther, O.J., Kastelic, J.P., y Knopf, L. (1989). Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Animal Reproduction Science*, 20(3), 187-200.
- Ginther, O.J., Knopf, L., y Kastelic, J. P. (1989). Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *Reproduction*, 87(1), 223-230.
- Ginther, O.J., Kot, K., Kulick, L. J., Martin, S., y Wiltbank, M.C. (1996). Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle. *Reproduction*, 108(2), 271-279.
- Ginther, O.J., Wiltbank, M.C., Fricke, P.M., Gibbons, J.R., y Kot, K. (1996). Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction*, 55, 1187-1194.

- Giraldo, C. (2003). Principios básicos de ultrasonografía veterinaria. *Revista MVZ Córdoba*, 8(2). Doi: 10.21897/rmvz.508
- Gottsch, M.L., Cunningham, M.J., Smith, J.T., Popa, S.M., Acohido, B.V., Crowley, W. F., ... y Steiner, R.A. (2004). A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology*, 145(9), 4073-4077.
- Knopf, L., Kastelic, J.P., Schallenberger, E., y Ginther, O.J. (1989). Ovarian follicular dynamics in heifers: test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. *Domestic Animal Endocrinology*, 6(2), 111-119.
- Ko, J.C.H., Kastelic, J.P., Del Campo, M.R., y Ginther, O.J. (1991). Effects of a dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifers. *Reproduction*, 91(2), 511-519.
- Kulick, L.J., Kot, K., Wiltbank, M.C., y Ginther, O.J. (1999). Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. *Theriogenology*, 52(5), 913-921.
- Lucy, M.C., Savio, J.D., Badinga, L., De La Sota, R.L., y Thatcher, W.W. (1992). Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *Journal of Animal Science*, 70(11), 3615-3626.
- Murphy, M.G., Boland, M.P., y Roche, J.F. (1990). Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. *Reproduction*, 90(2), 523-533.
- Murphy, M.G., Enright, W.J., Crowe, M.A., McConnell, K., Spicer, L.J., Boland, M.P., y Roche, J.F. (1991). Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle in beef heifers. *Reproduction*, 92(2), 333-338.
- Pierson, R.A., y Ginther, O.J. (1988). Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology*, 29(1), 21-37.
- Quintela, L.A., Díaz, C., Herradón, P.G., Peña, A.I., y Becerra, J.J. (2006). *Ecografía y reproducción en la vaca*. Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela.
- Rajakoski, E. (1960). The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical, and left-right variations. *Acta Endocrinologica*, 52 (3-Suppl.), S7-S68.
- Rajamahendran, R., y Taylor, C. (1990). Characterization of ovarian activity in postpartum dairy cows using ultrasound imaging and progesterone profiles. *Animal Reproduction Science*, 22(3), 171-180.

- Rhodes, F.M., De'Ath, G., y Entwistle, K.W. (1995). Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. *Animal Reproduction Science*, 38(4), 265-277.
- Rippe, C.A. (2009). El ciclo estral. En Dairy Cattle Reproduction Council, *Dairy Cattle Reproduction Conference* (pp. 111-116). Minneapolis: DCRC.
- Sartori, R., y Barros, C.M. (2011). Reproductive cycles in Bos indicus cattle. *Animal Reproduction Science*, 124(3-4), 244-250.
- Sartori, R., Haughian, J.M., Shaver, R.D., Rosa, G.J.M., y Wiltbank, M.C. (2004). Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 87(4), 905-920.
- Savio, J.D., Boland, M.P., y Roche, J.F. (1990). Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. *Reproduction*, 88(2), 581-591.
- Savio, J.D., Keenan, L., Boland, M.P., y Roche, J.F. (1988). Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *Reproduction*, 83(2), 663-671.
- Senger, P.L. (2003). Regulation of reproduction—nerves, hormones and target tissues. En *Pathways to Pregnancy and Parturition*, (2ª ed., pp. 102-127). Pullman, WA : Current Conceptions.
- Sirois, J., y Fortune, J.E. (1988). Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonograph. *Biology of Reproduction*, 39(2), 308-317.
- Torres, M.T. (2012). La ecografía como medio diagnóstico y evaluación de los procesos reproductivos en el bovino. Recuperado de https://produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/ecografia_ultrasonido/36-ecografia_reproduccion.pdf
- Townson, D.H., Tsang, P.C., Butler, W.R., Frajblat, M., Griel Jr, L.C., Johnson, C.J., ... Pate, J.L. (2002). Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *Journal of Animal Science*, 80(4), 1053-1058.
- Ungerfeld, R. (2002). *Reproducción en los animales domésticos* (Vol.1). Montevideo: Melibea.
- Vasconcelos, J.L.M., Sartori, R., Oliveira, H.N., Guenther, J.G., y Wiltbank, M.C. (2001). Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*, 56(2), 307-314.
- Zeitoun, M.M., Rodriguez, H.F., y Randel, R.D. (1996). Effect of season on ovarian follicular dynamics in Brahman cows. *Theriogenology*, 45(8), 1577-1581.

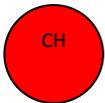
ANEXOS

Planillas de registro de estructuras ováricas observadas durante el seguimiento ecográfico diario realizado durante el trabajo.

Referencias:



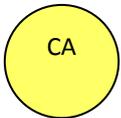
Folículo



Cuerpo hemorrágico



Cuerpo lúteo



Cuerpo albicans

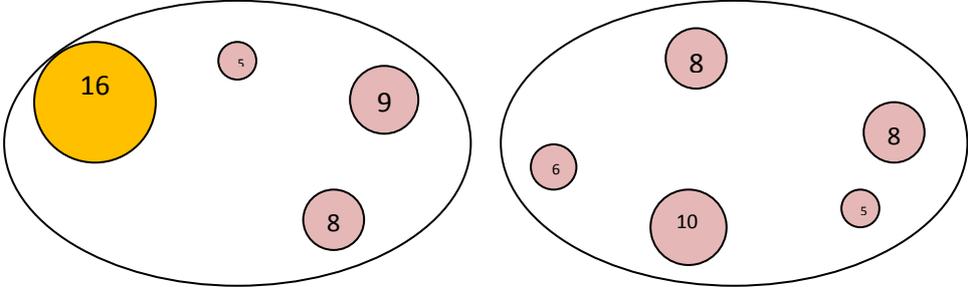
Caravana: 036 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 30/3 Día 0		
		Celo
Fecha: 31/3 Día 1		
Fecha: 1/4 Día 2		
Fecha: 2/4 Día 3		

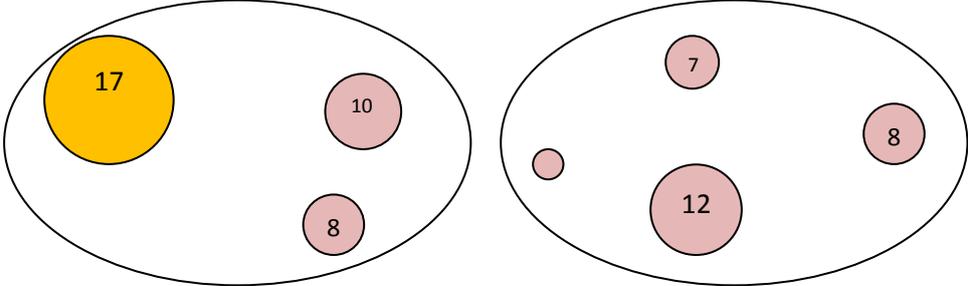
Caravana: 036 Amarilla

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

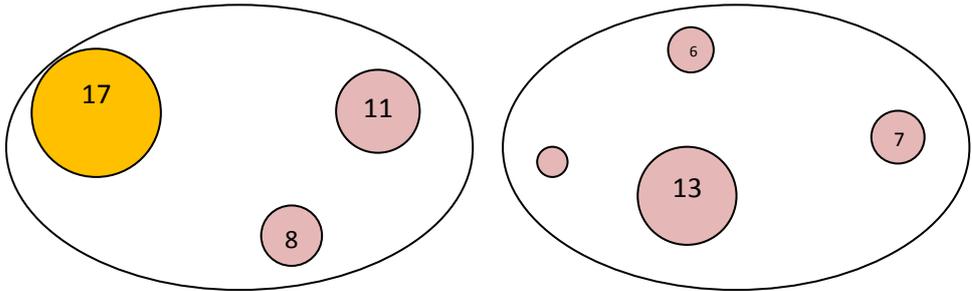
Fecha: 3/4 Día 4



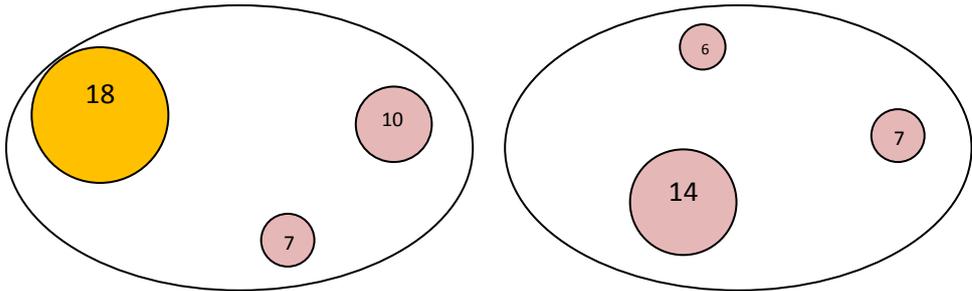
Fecha: 4/4 Día 5



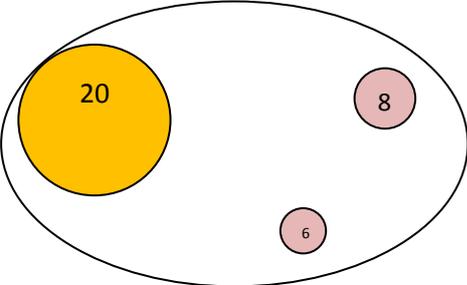
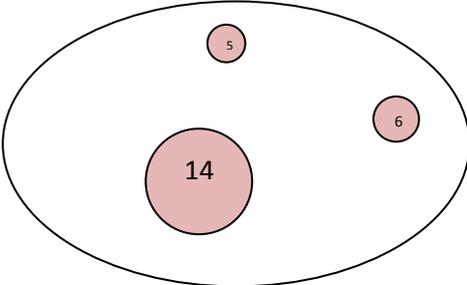
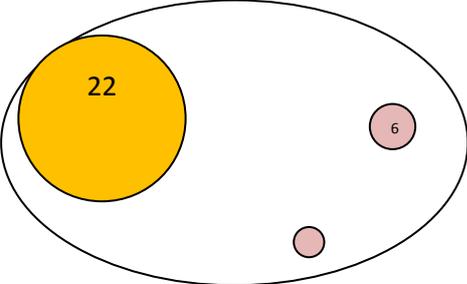
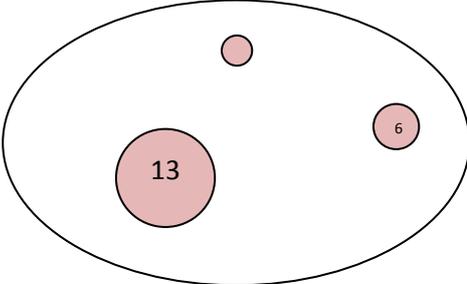
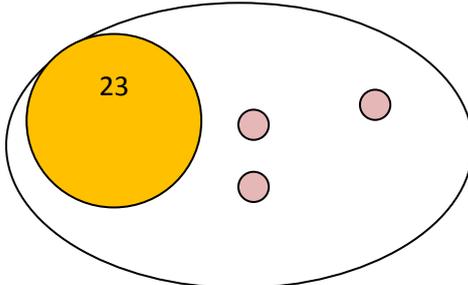
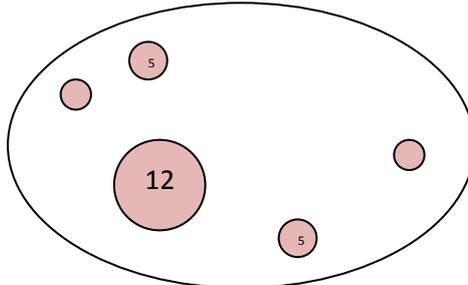
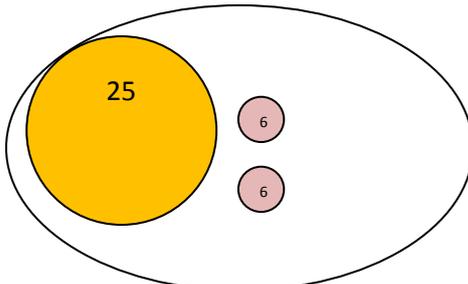
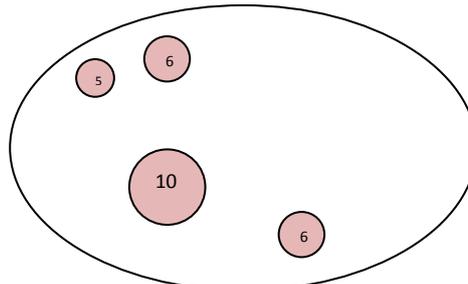
Fecha: 5/4 Día 6



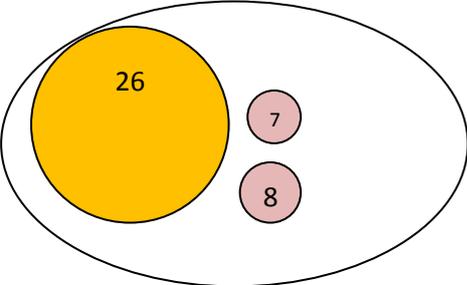
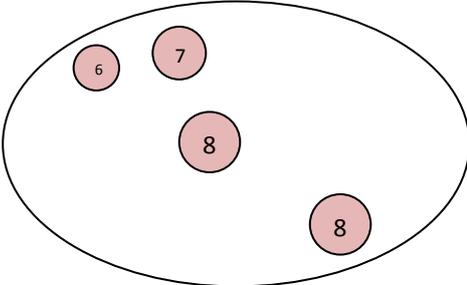
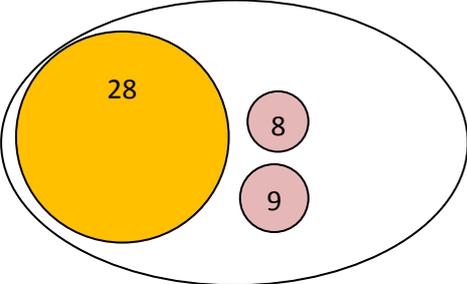
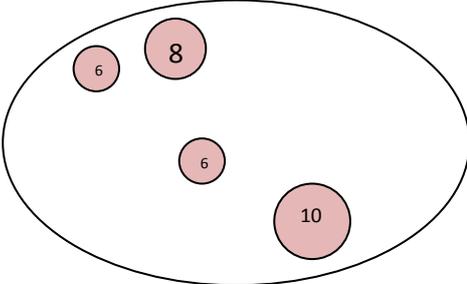
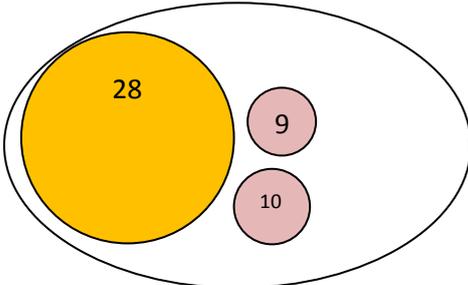
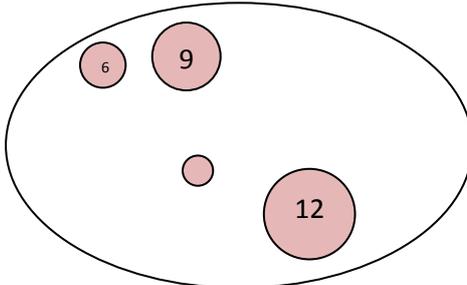
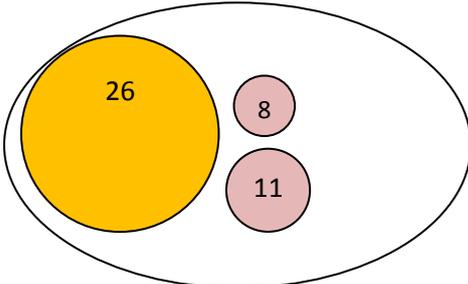
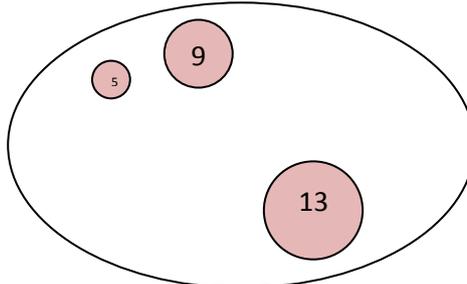
Fecha: 6/4 Día 7



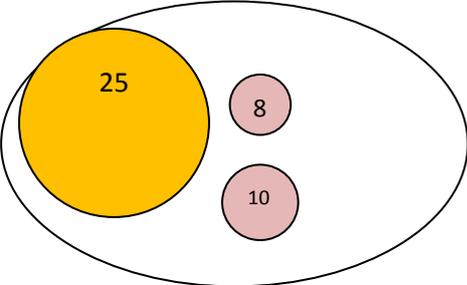
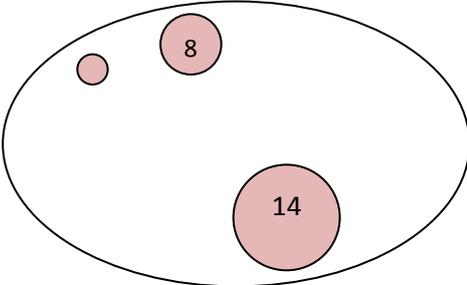
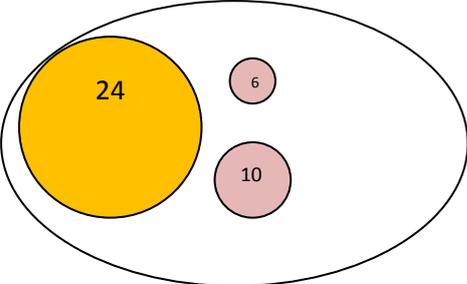
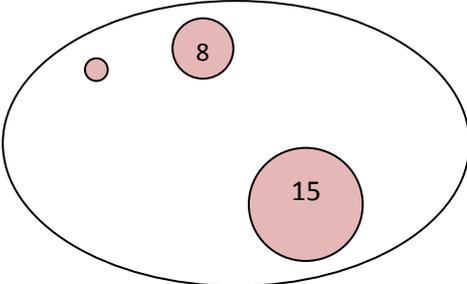
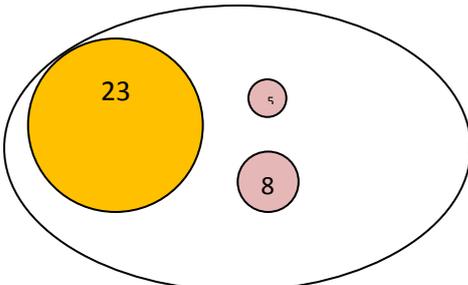
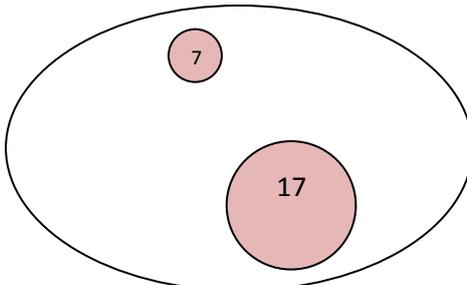
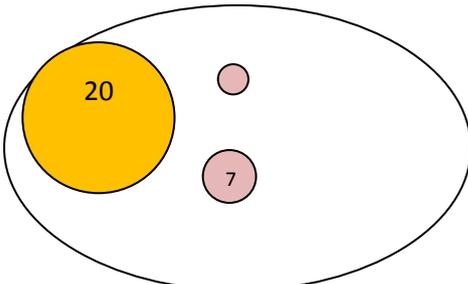
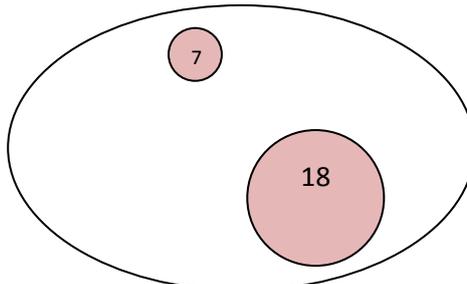
Caravana: 036 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 7/4 Día 8		
		
Fecha: 8/4 Día 9		
		
Fecha: 9/4 Día 10		
		
Fecha: 10/4 Día 11		
		

Caravana: 036 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 11/4 Día 12		
		
Fecha: 12/4 Día 13		
		
Fecha: 13/4 Día 14		
		
Fecha: 14/4 Día 15		
		

Caravana: 036 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 15/4 Día 16		
		
Fecha: 16/4 Día 17		
		
Fecha: 17/4 Día 18		
		
Fecha: 18/4 Día 19		
		

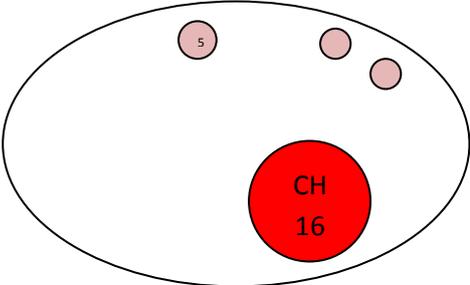
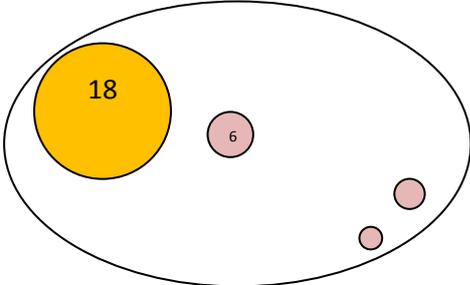
Caravana: 036 Amarilla

Ovario izquierdo

Ovario derecho

Observaciones

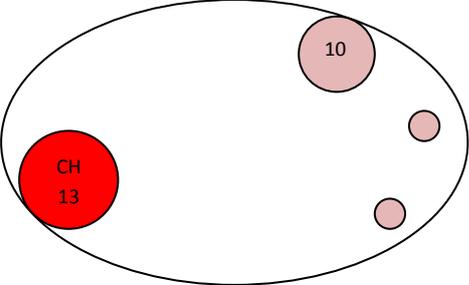
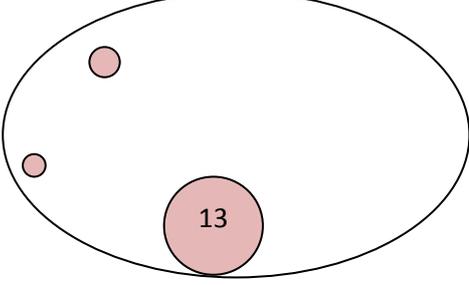
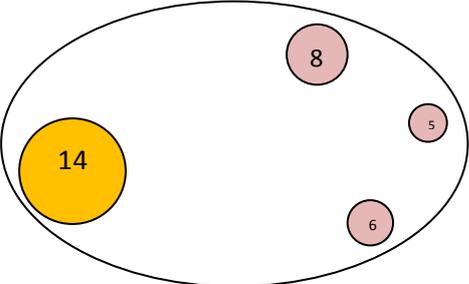
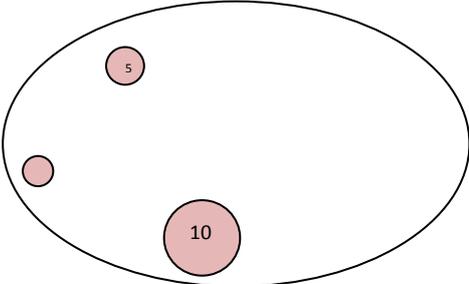
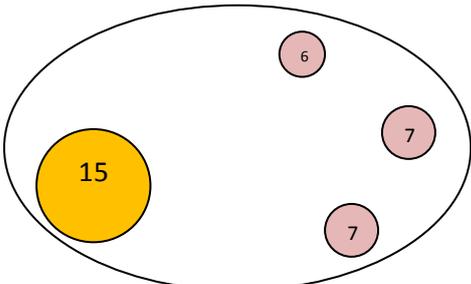
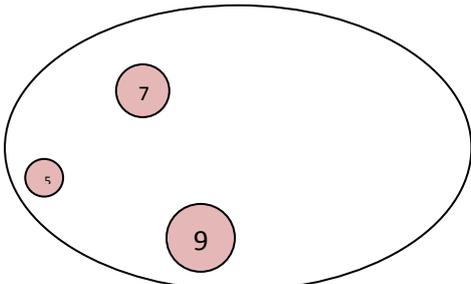
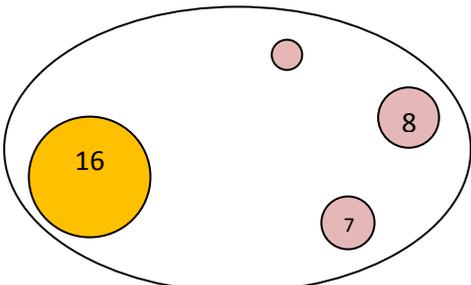
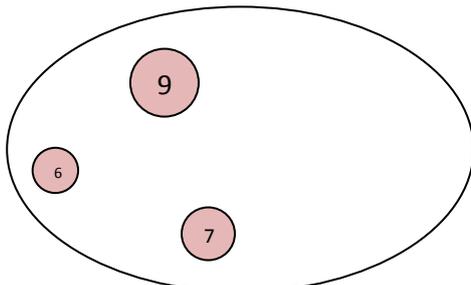
Fecha: 19/4 Día 20



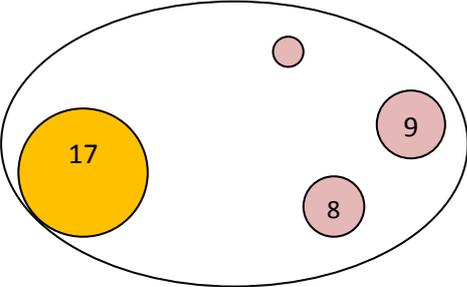
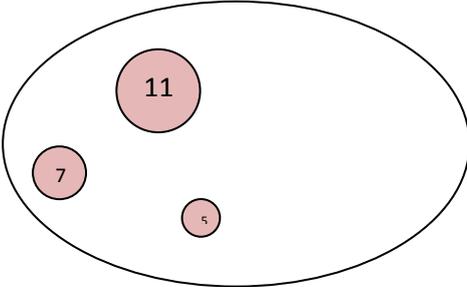
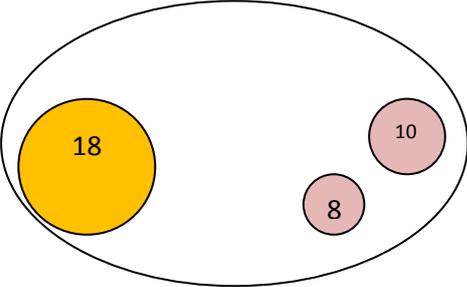
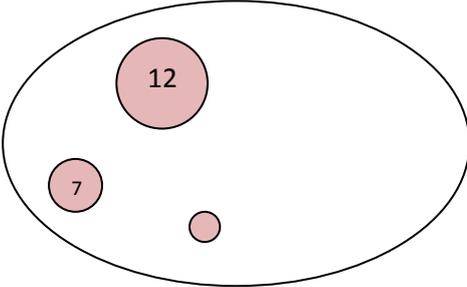
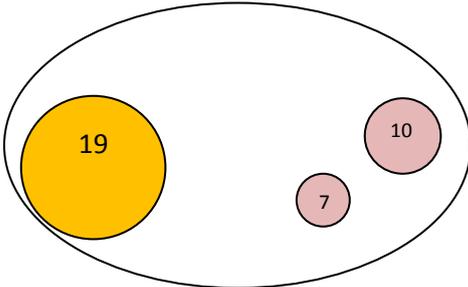
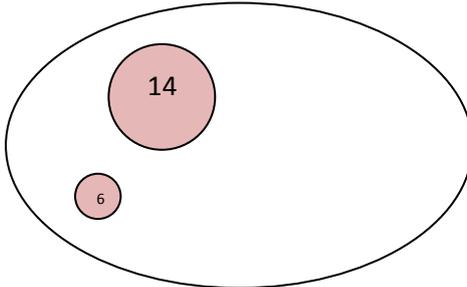
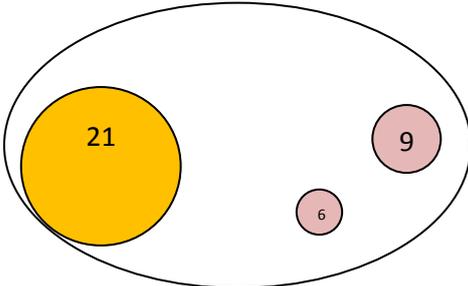
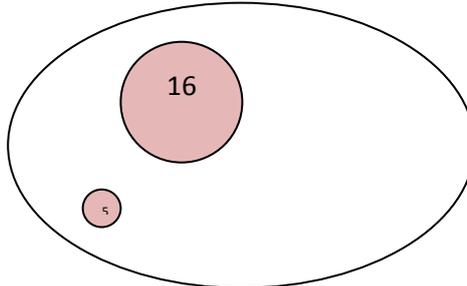
Celo

Moco vaginal

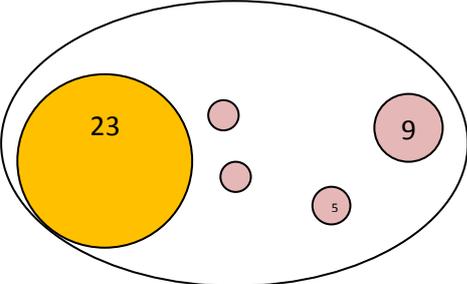
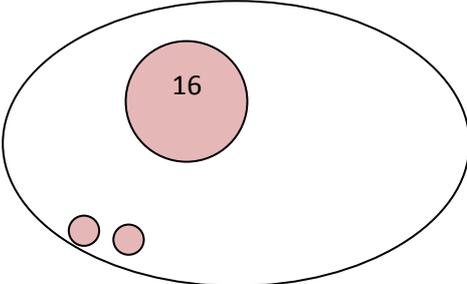
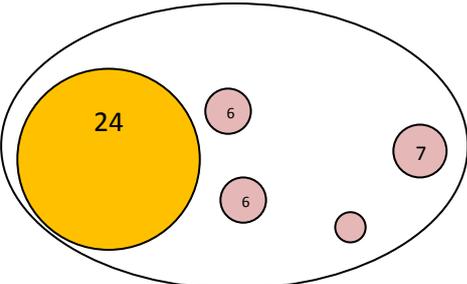
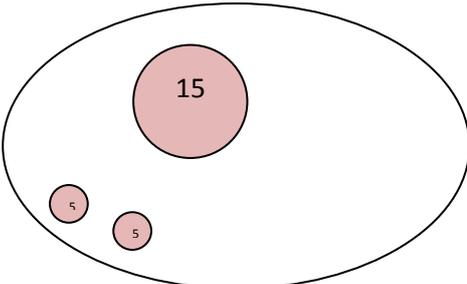
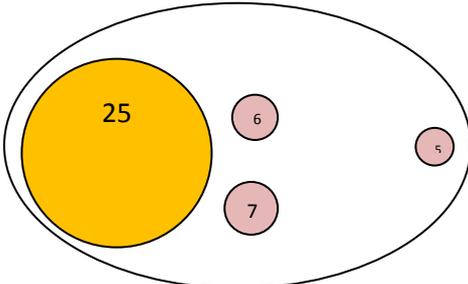
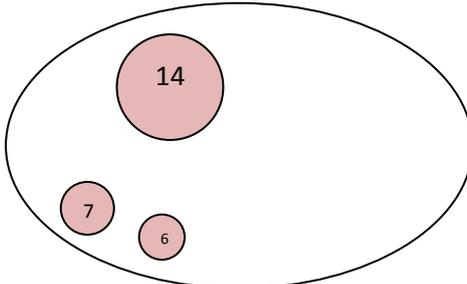
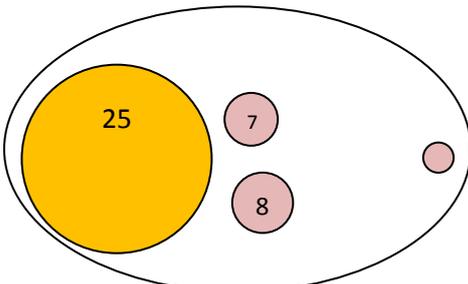
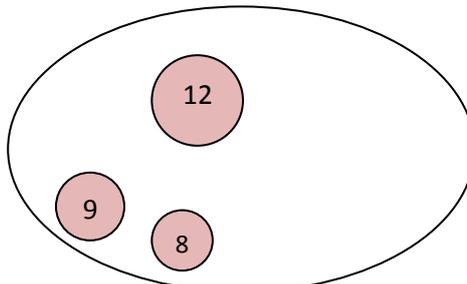
Caravana: 954 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 30/3 Día 0		
		Celo Moco vaginal
Fecha: 31/3 Día 1		
		
Fecha: 1/4 Día 2		
		
Fecha: 2/4 Día 3		
		

Caravana: 954 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 3/4 Día 4		
		
Fecha: 4/4 Día 5		
		
Fecha: 5/4 Día 6		
		
Fecha: 6/4 Día 7		
		

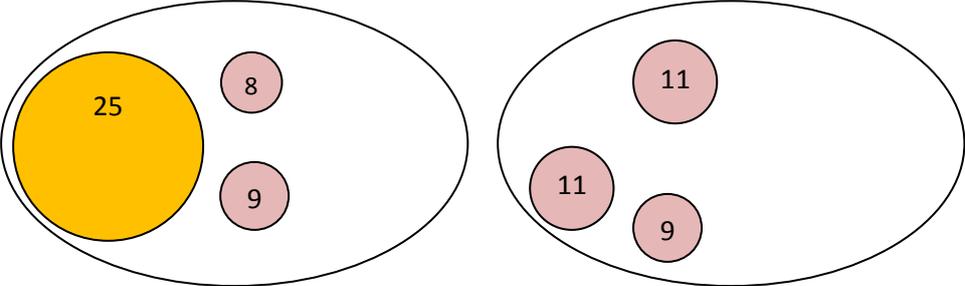
Caravana: 954 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 7/4 Día 8		
		
Fecha: 8/4 Día 9		
		
Fecha: 9/4 Día 10		
		
Fecha: 10/4 Día 11		
		

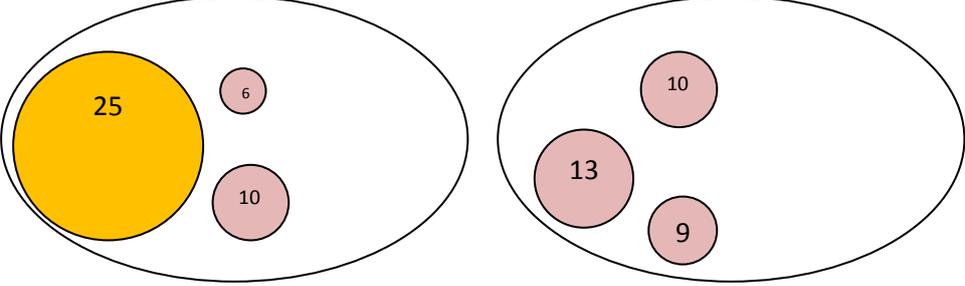
Caravana: 954 Amarilla

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

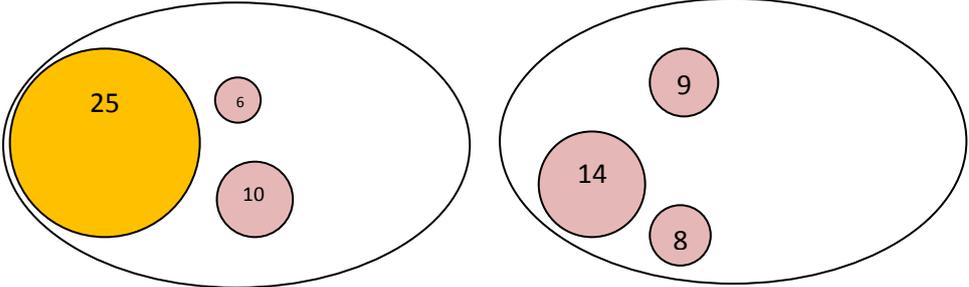
Fecha: 11/4 Día 12



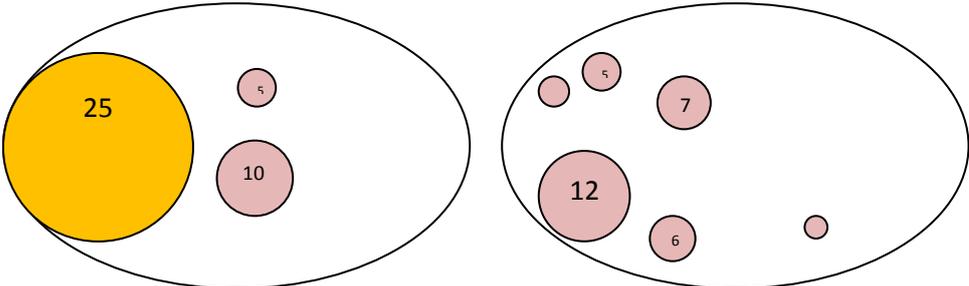
Fecha: 12/4 Día 13



Fecha: 13/4 Día 14



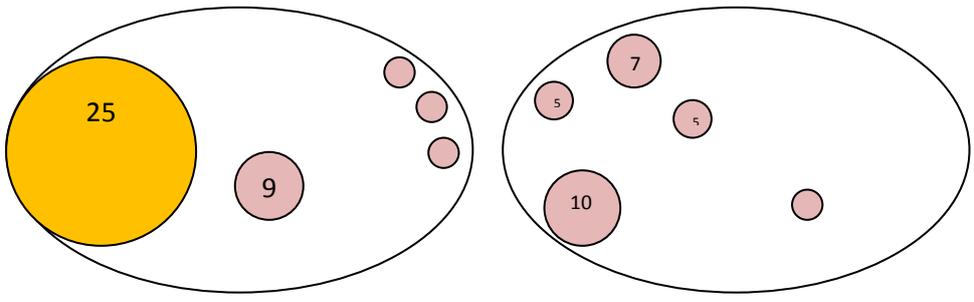
Fecha: 14/4 Día 15



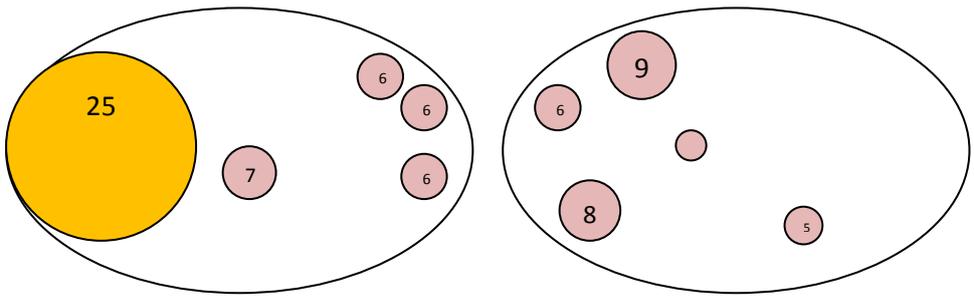
Caravana: 954 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
------------------	----------------	---------------

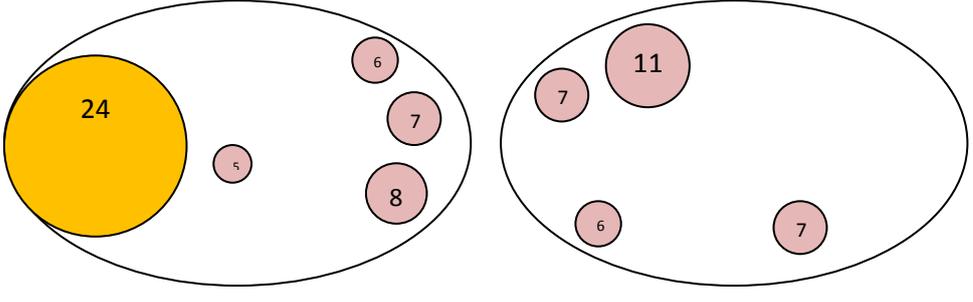
Fecha: 15/4 Día 16



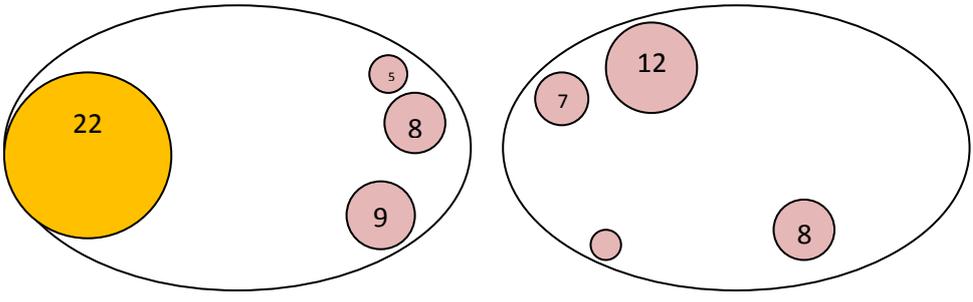
Fecha: 16/4 Día 17



Fecha: 17/4 Día 18



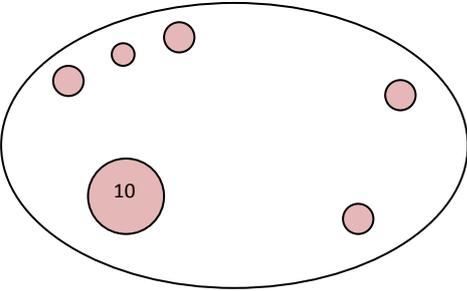
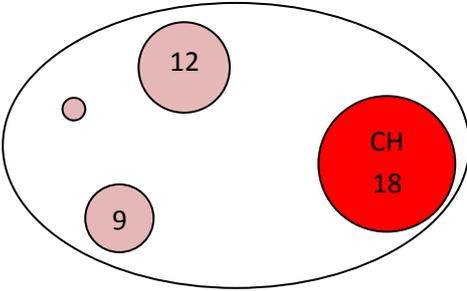
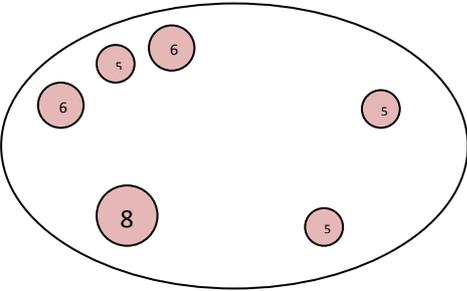
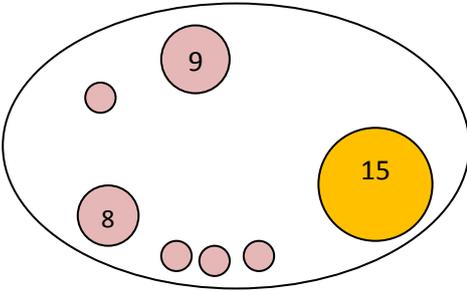
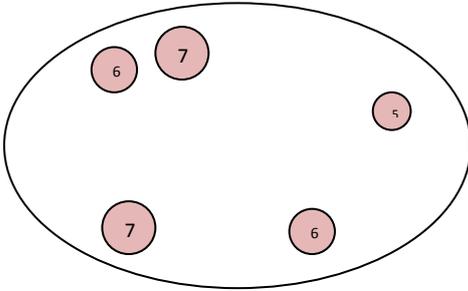
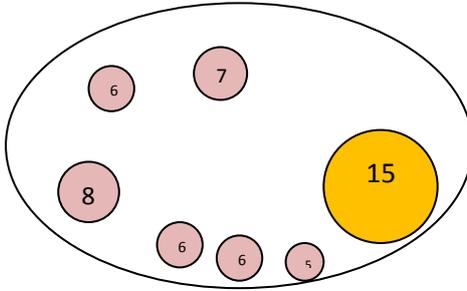
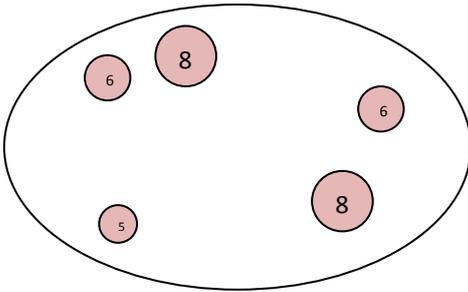
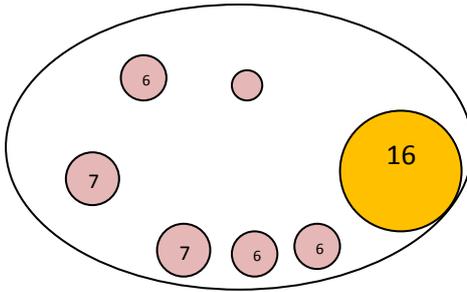
Fecha: 18/4 Día 19



Caravana: 954 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 19/4 Día 20		
Fecha: 20/4 Día 21		
Fecha: 21/4 Día 22		
		Celo

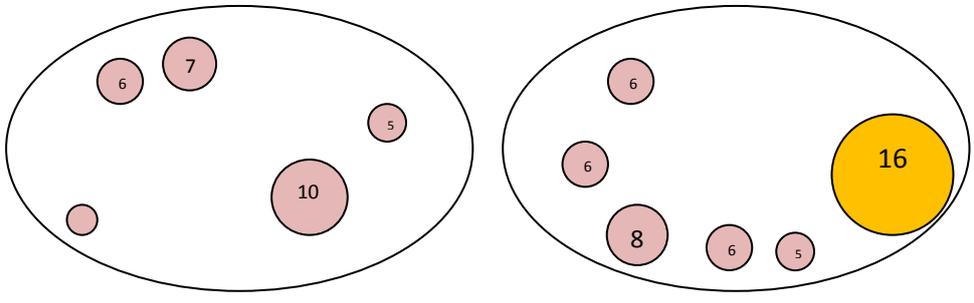
Caravana: 837 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 29/3 Día 0		
		Moco vaginal Útero tono 3 Peladura en grupa
Fecha: 30/3 Día 1		
		
Fecha: 31/3 Día 2		
		
Fecha: 1/4 Día 3		
		

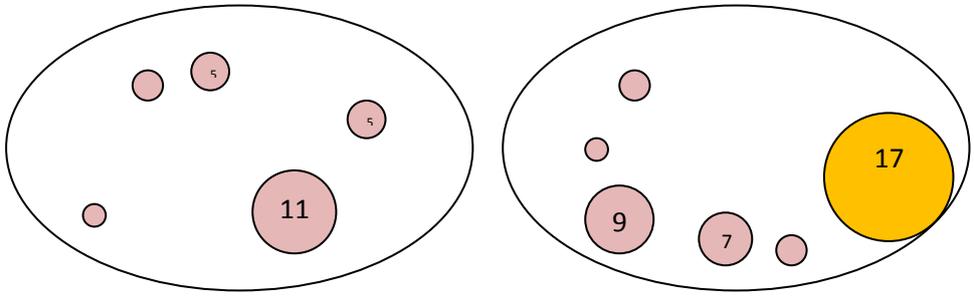
Caravana: 837 Amarilla

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

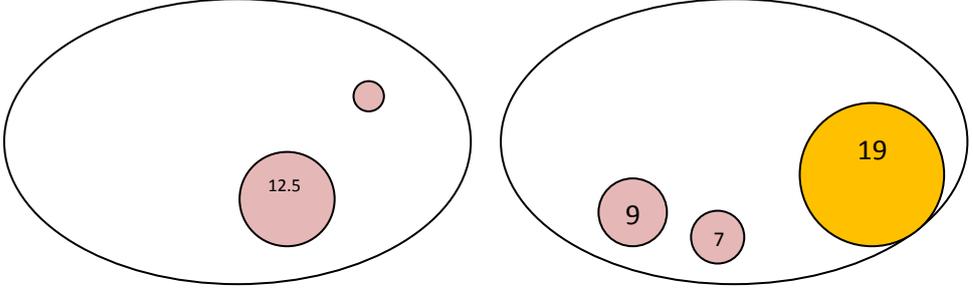
Fecha: 2/4 Día 4



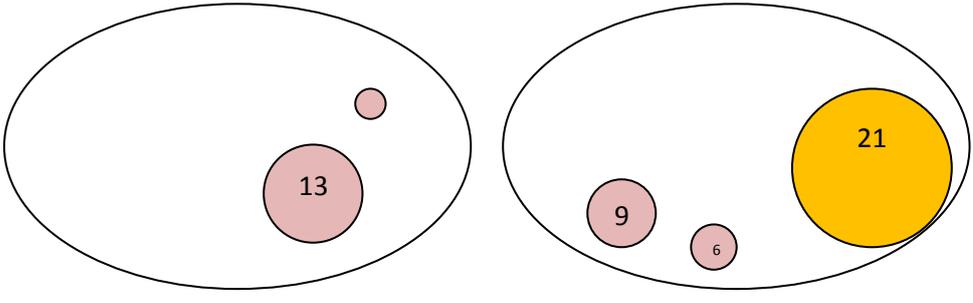
Fecha: 3/4 Día 5



Fecha: 4/4 Día 6



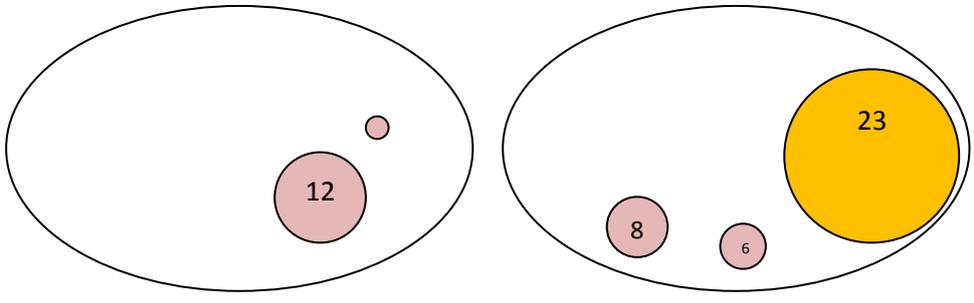
Fecha: 5/4 Día 7



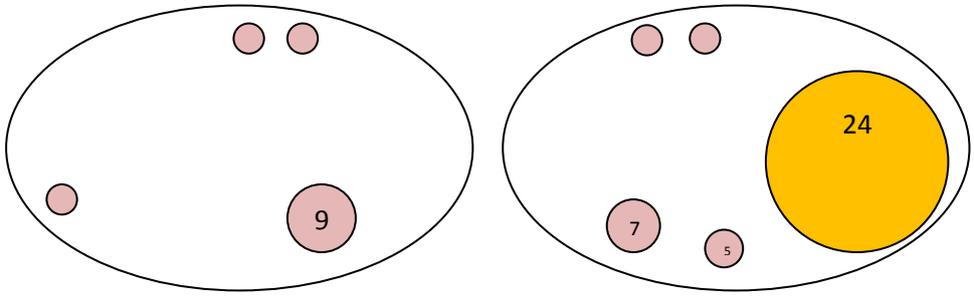
Caravana: 837 Amarilla

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

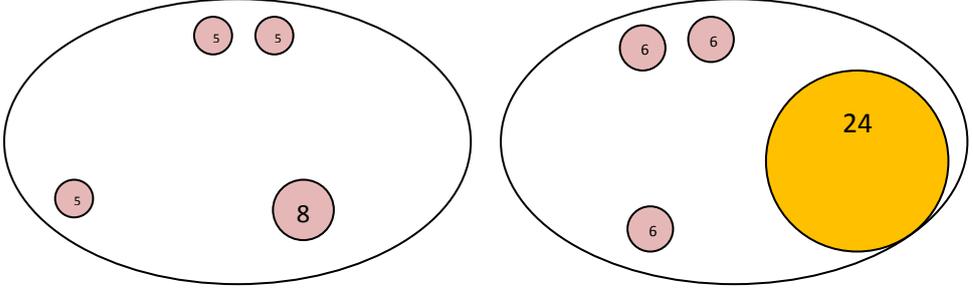
Fecha: 6/4 Día 8



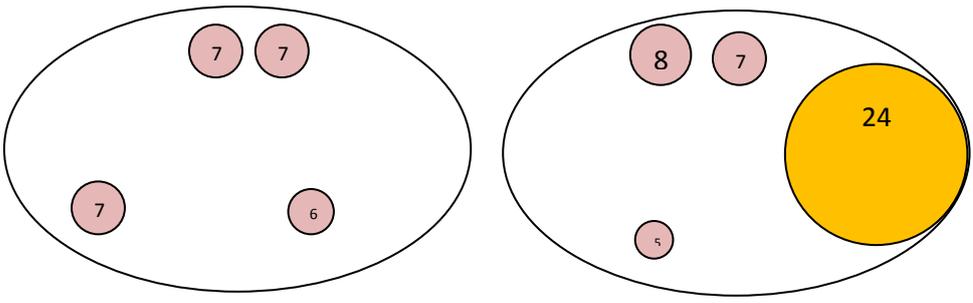
Fecha: 7/4 Día 9



Fecha: 8/4 Día 10



Fecha: 9/4 Día 11



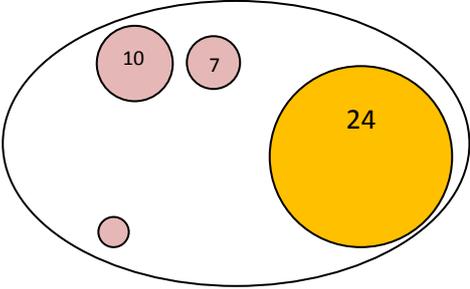
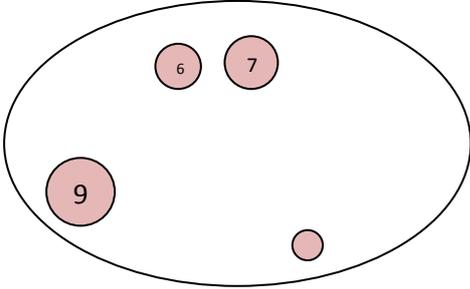
Caravana: 837 Amarilla

Ovario izquierdo

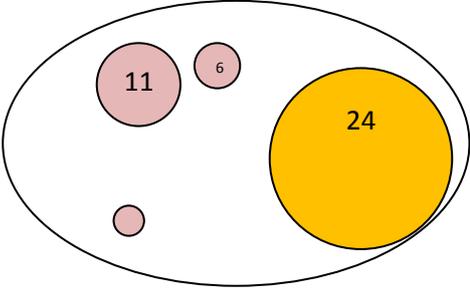
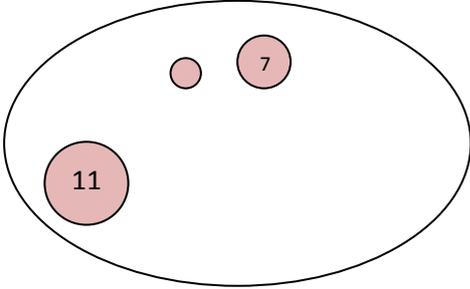
Ovario derecho

Observaciones

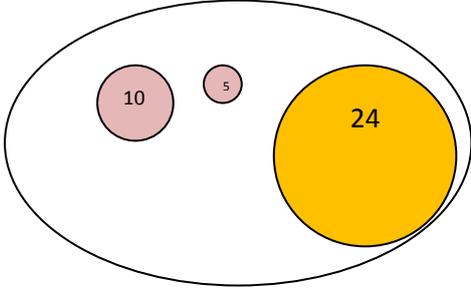
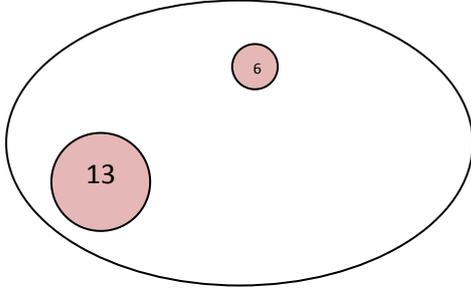
Fecha: 10/4 Día 12



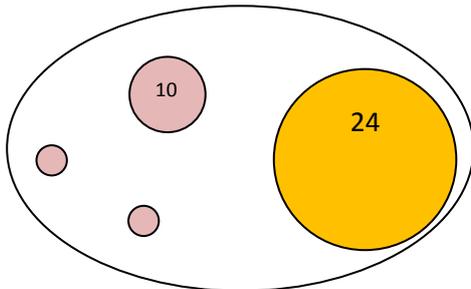
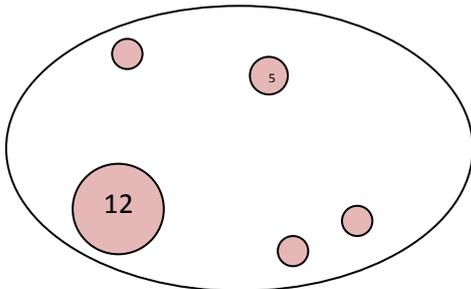
Fecha: 11/4 Día 13



Fecha: 12/4 Día 14



Fecha: 13/4 Día 15



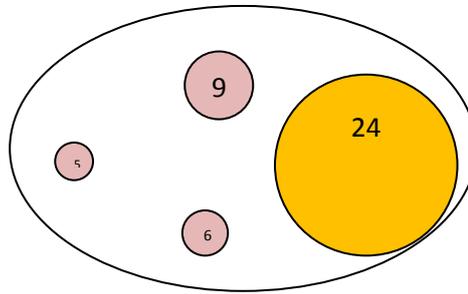
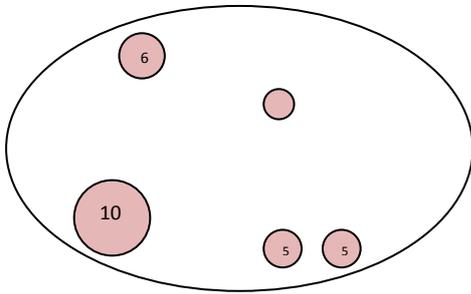
Caravana: 837 Amarilla

Ovario izquierdo

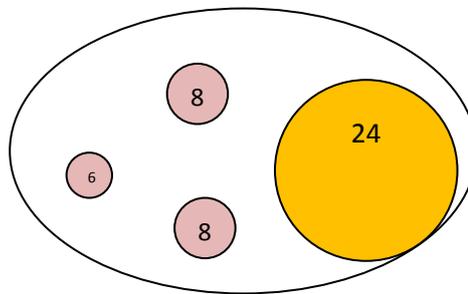
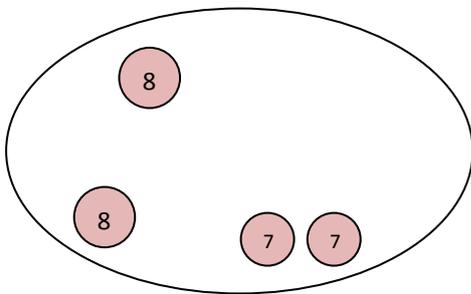
Ovario derecho

Observaciones

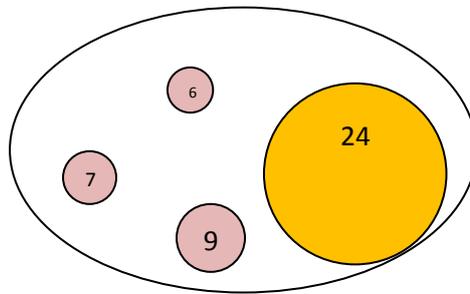
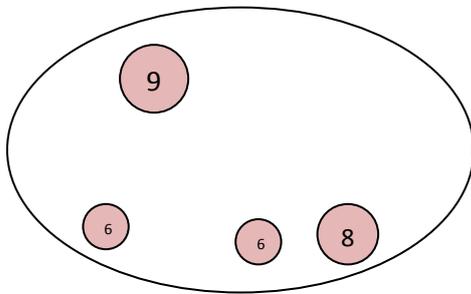
Fecha: 14/4 Día 16



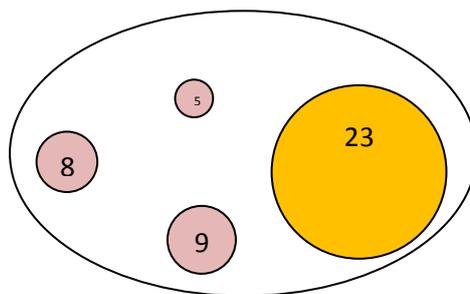
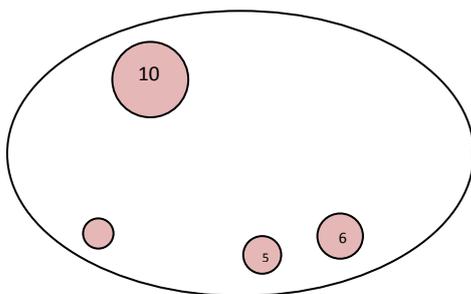
Fecha: 15/4 Día 17



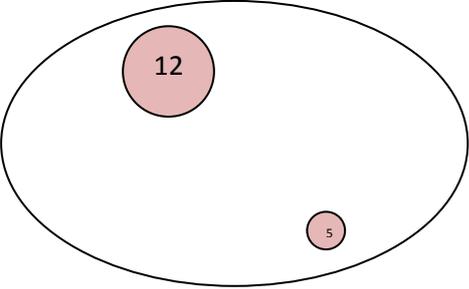
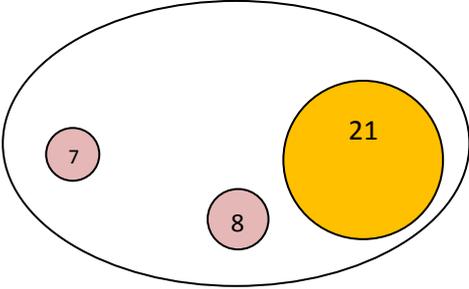
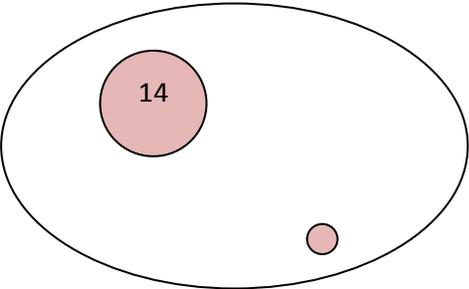
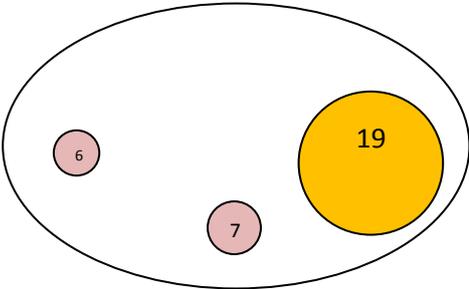
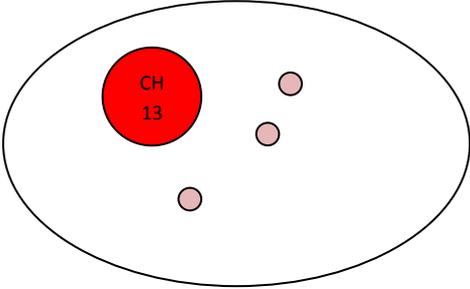
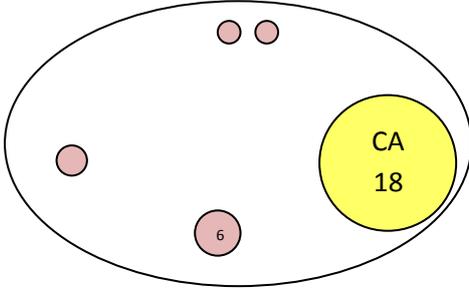
Fecha: 16/4 Día 18



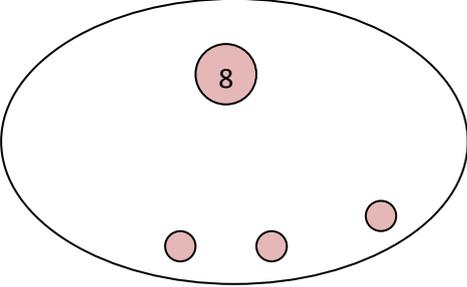
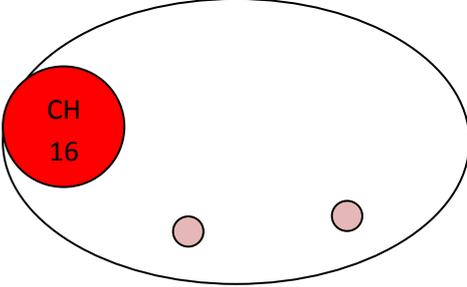
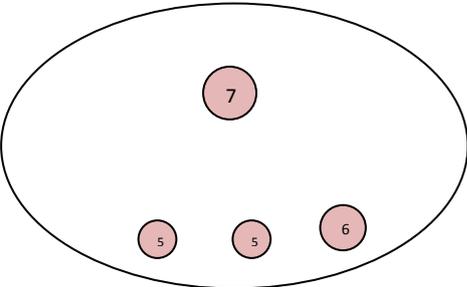
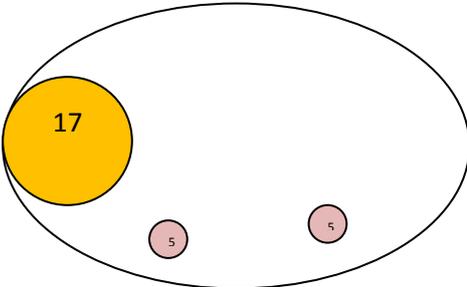
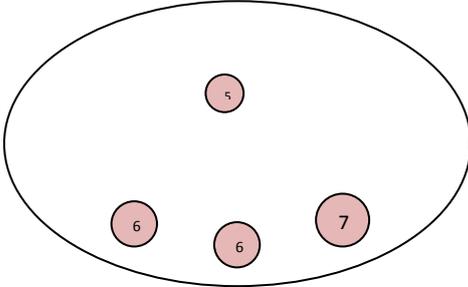
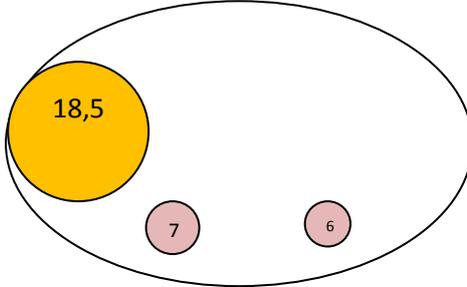
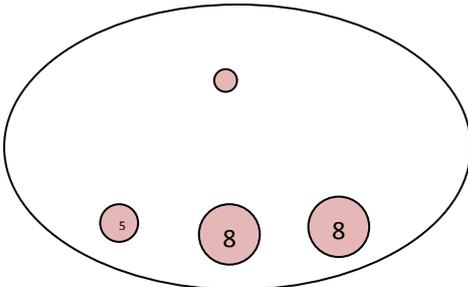
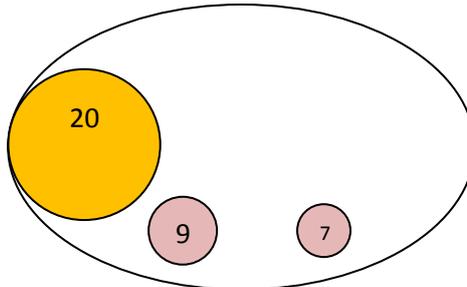
Fecha: 17/4 Día 19



Caravana: 837 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 18/4 Día 20		
		
Fecha: 19/4 Día 21		
		Útero tono 3
Fecha: 20/4 Día 22		
		Útero tono 3 Celo

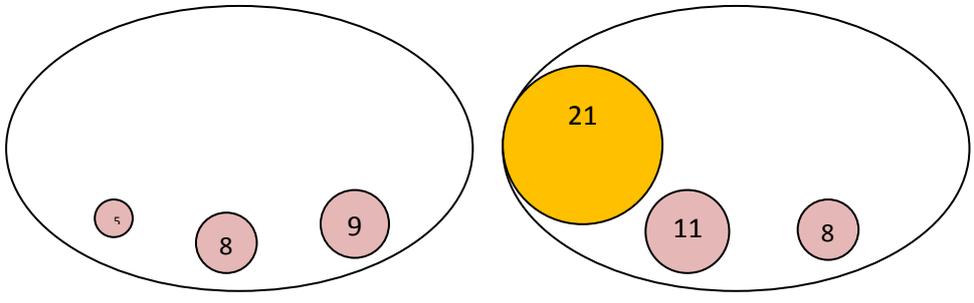
Caravana: 116 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 29/3 Día 0		
		Celo
Fecha: 30/3 Día 1		
		
Fecha: 31/3 Día 2		
		
Fecha: 1/4 Día 3		
		

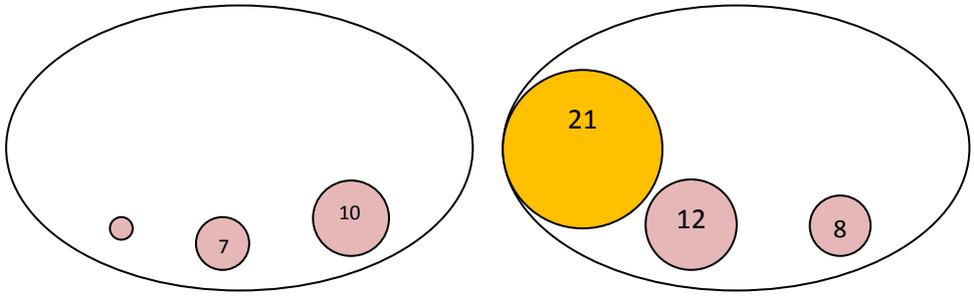
Caravana: 116 Amarilla

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

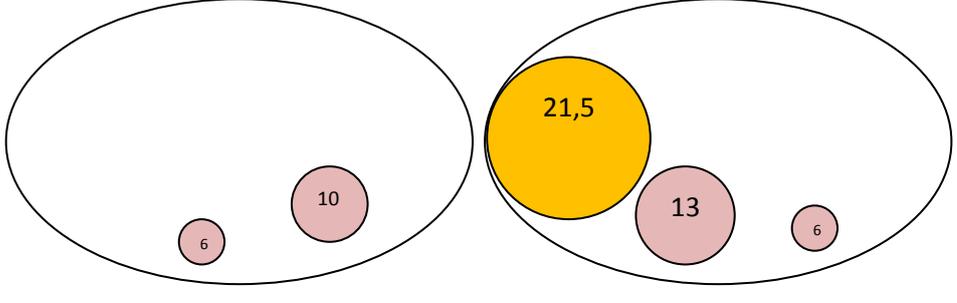
Fecha: 2/4 Día 4



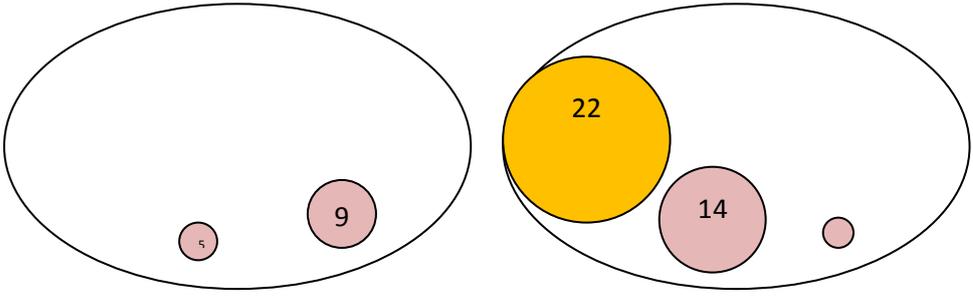
Fecha: 3/4 Día 5



Fecha: 4/4 Día 6



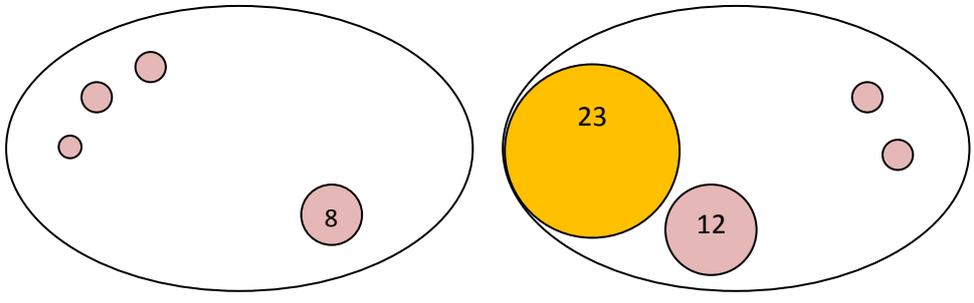
Fecha: 5/4 Día 7



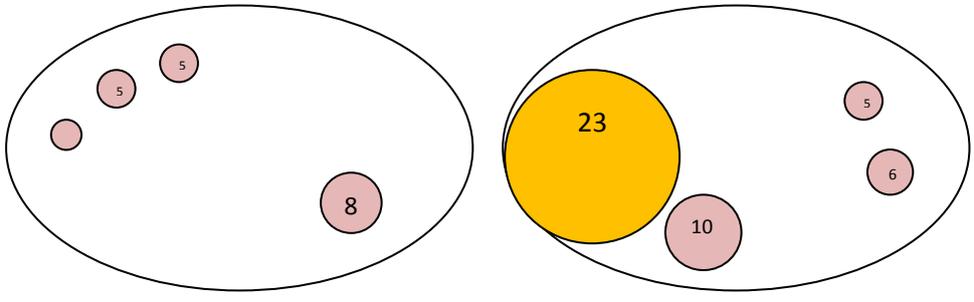
Caravana: 116 Amarilla

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

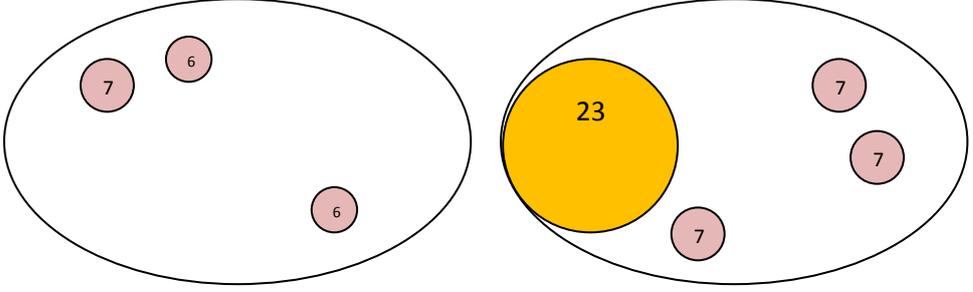
Fecha: 6/4 Día 8



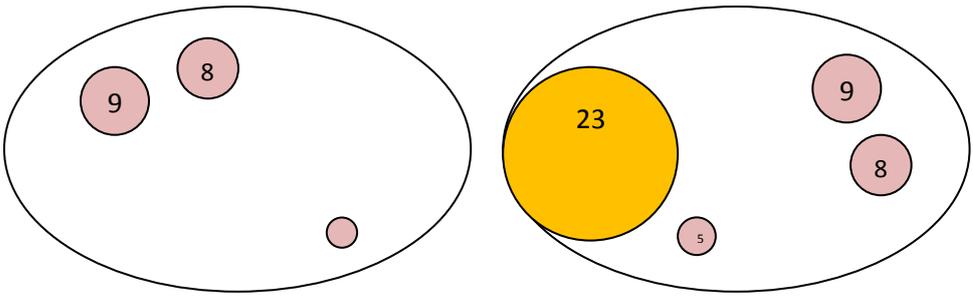
Fecha: 7/4 Día 9



Fecha: 8/4 Día 10



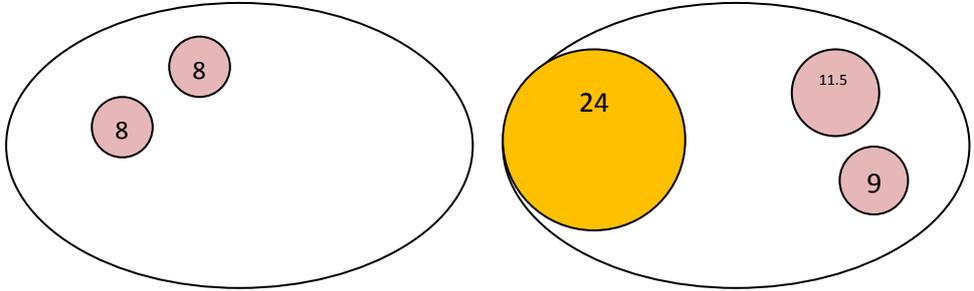
Fecha: 9/4 Día 11



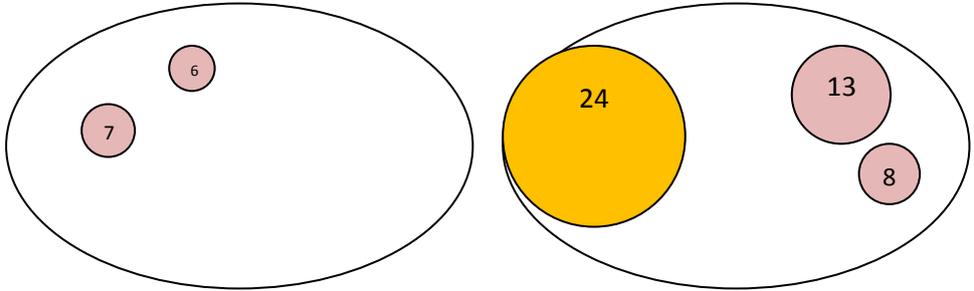
Caravana: 116 Amarilla

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

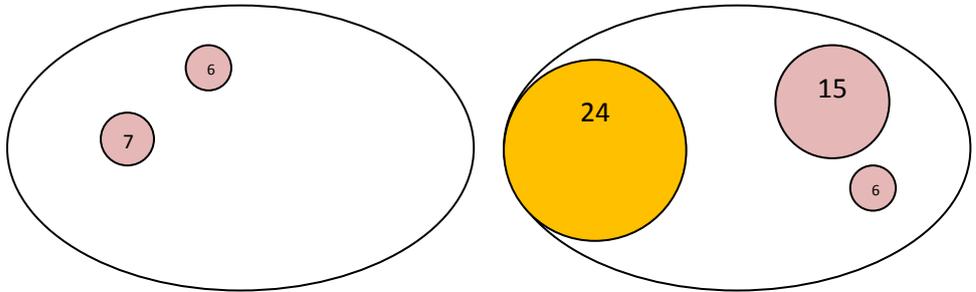
Fecha: 10/4 Día 12



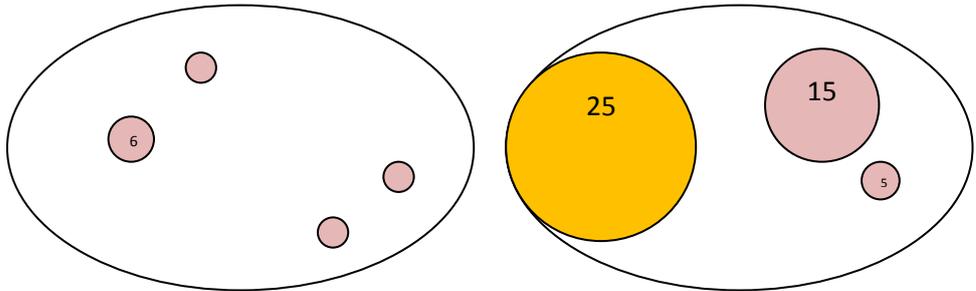
Fecha: 11/4 Día 13



Fecha: 12/4 Día 14



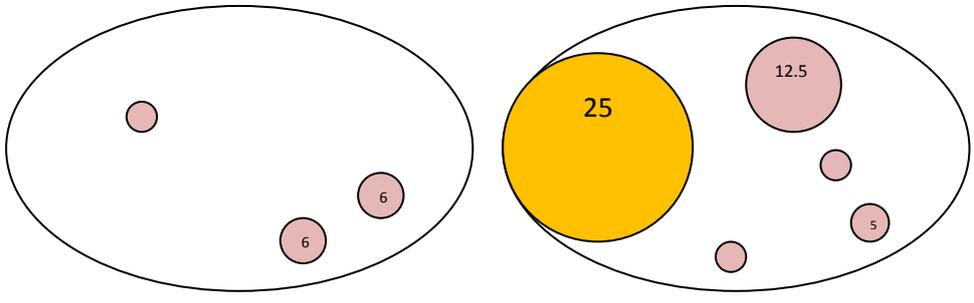
Fecha: 13/4 Día 15



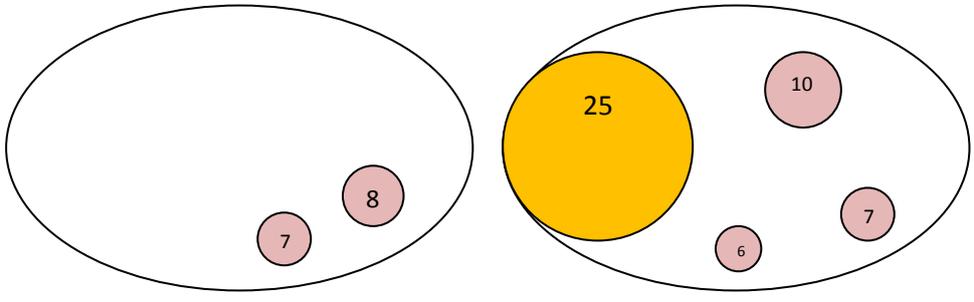
Caravana: 116 Amarilla

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

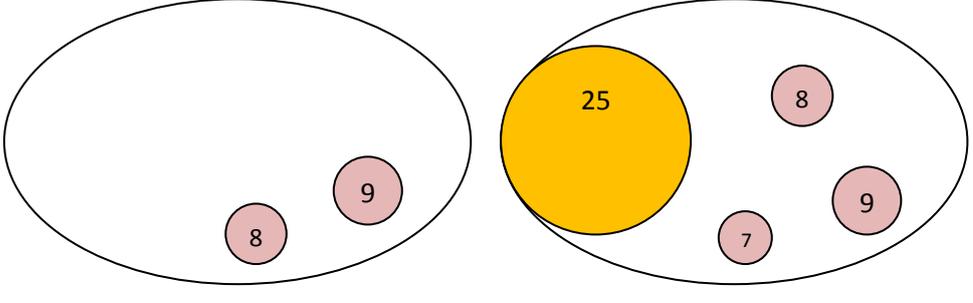
Fecha: 14/4 Día 16



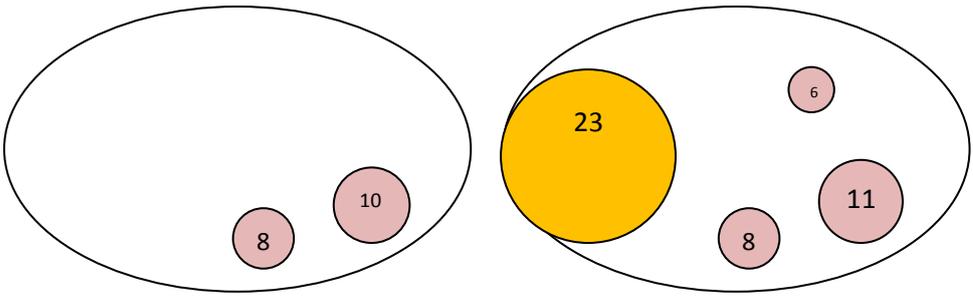
Fecha: 15/4 Día 17



Fecha: 16/4 Día 18



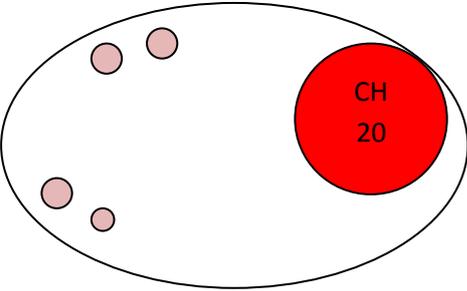
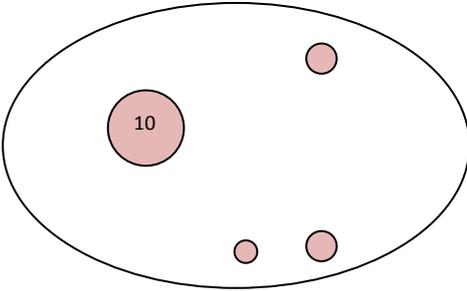
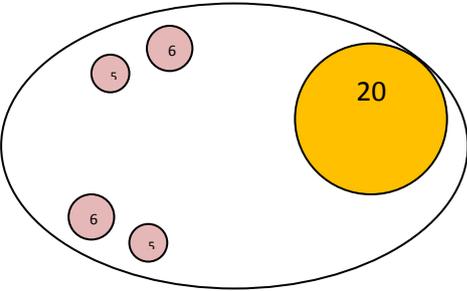
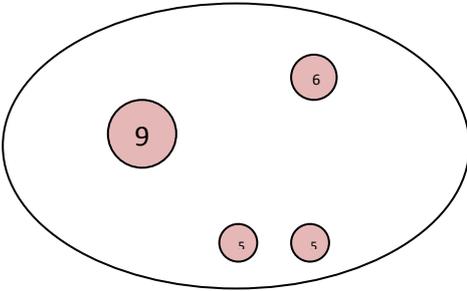
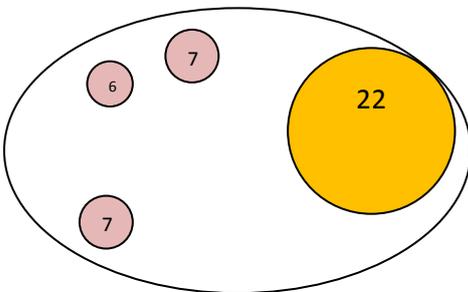
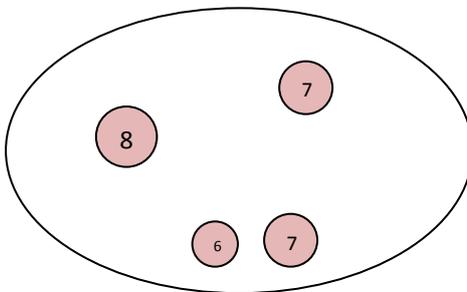
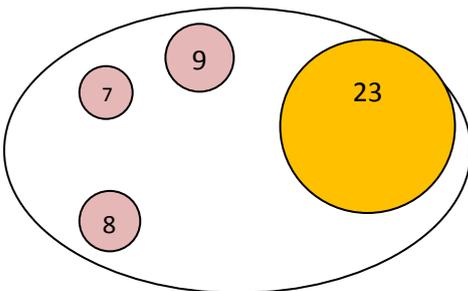
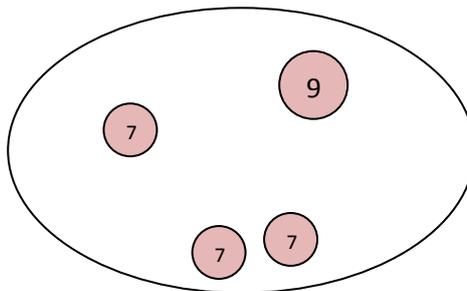
Fecha: 17/4 Día 19



Caravana: 116 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 18/4 Día 20		
Fecha: 19/4 Día 21		
Fecha: 20/4 Día 22		
		- Útero tono 3
Fecha: 21/4 Día 23		
		- Celo - Moco vaginal

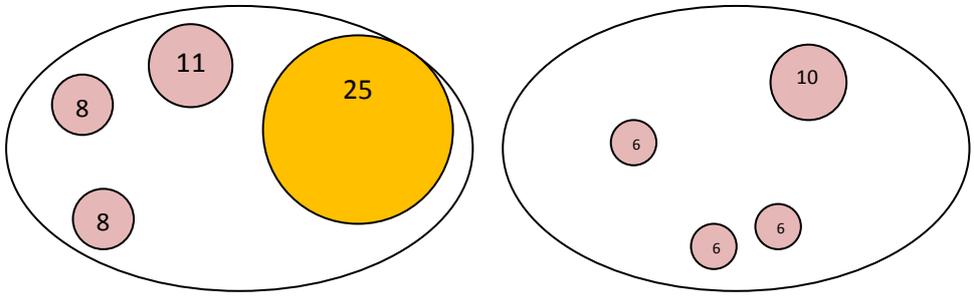
Caravana: 952 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 29/3 Día 0		
		Útero tono 3
Fecha: 30/3 Día 1		
		
Fecha: 31/3 Día 2		
		
Fecha: 1/4 Día 3		
		

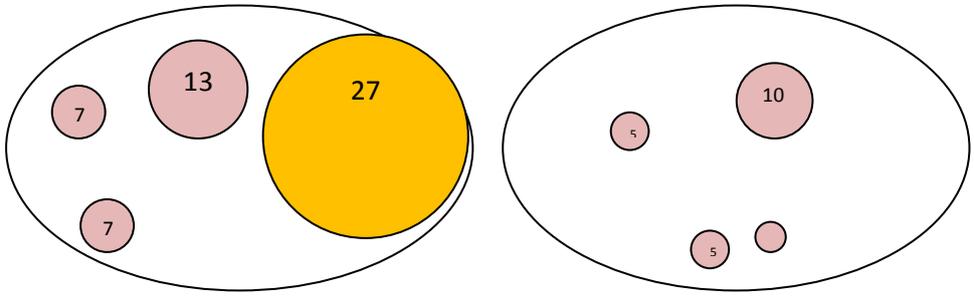
Caravana: 952 Amarilla

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

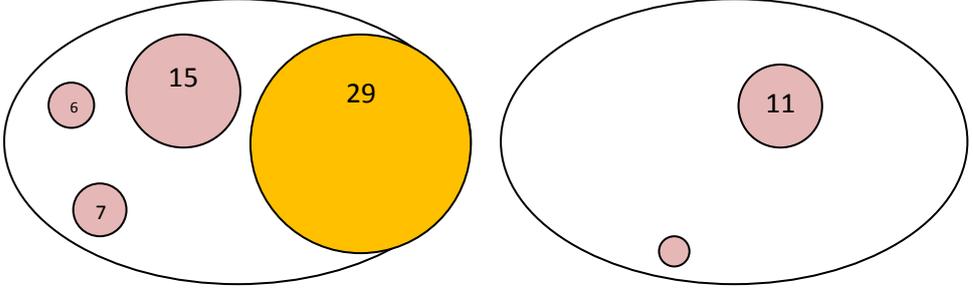
Fecha: 2/4 Día 4



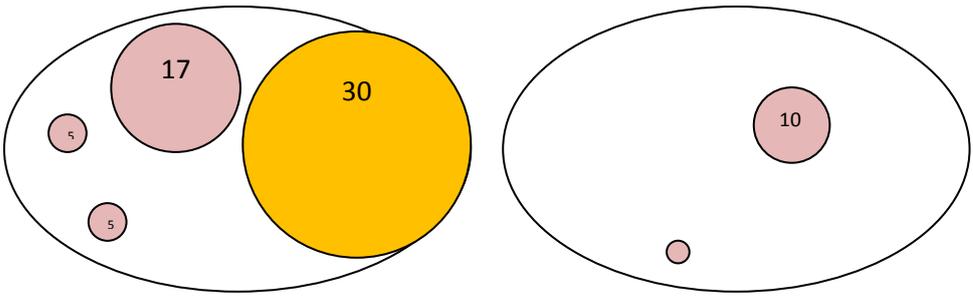
Fecha: 3/4 Día 5



Fecha: 4/4 Día 6



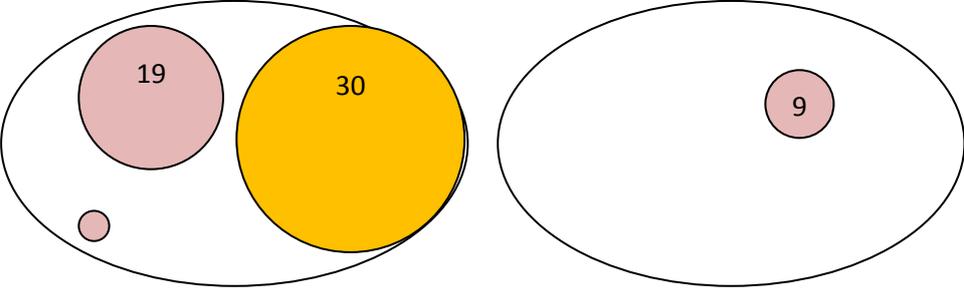
Fecha: 5/4 Día 7



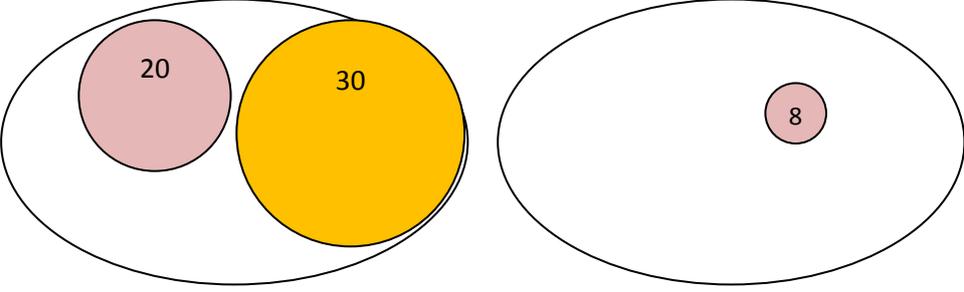
Caravana: 952 Amarilla

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

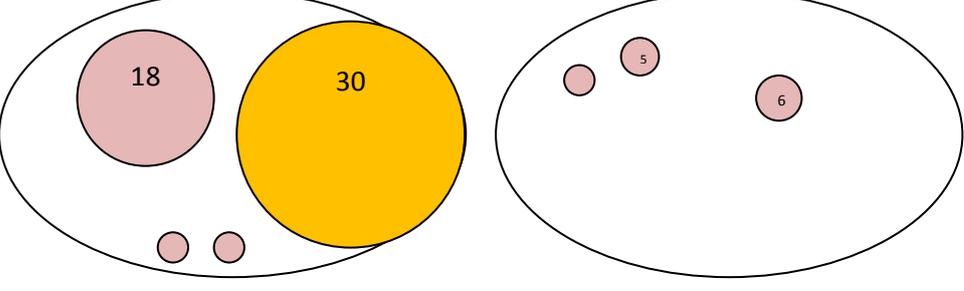
Fecha: 6/4 Día 8



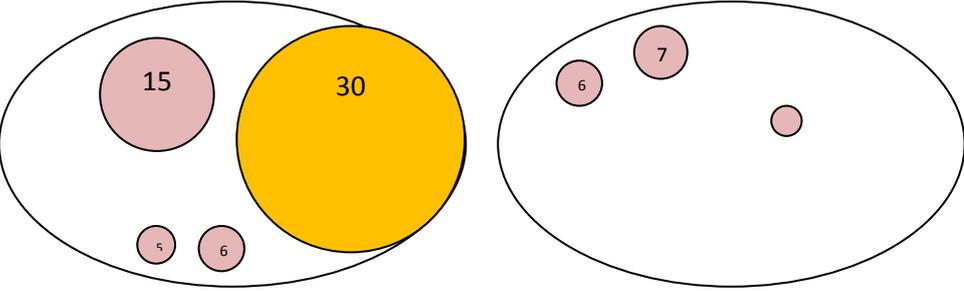
Fecha: 7/4 Día 9



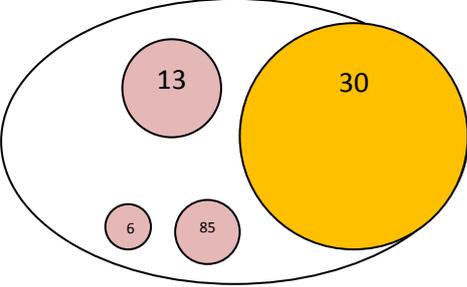
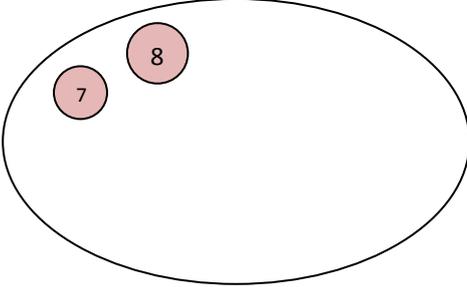
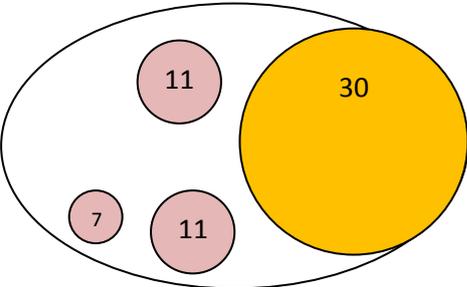
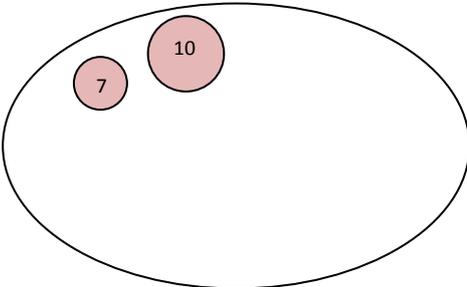
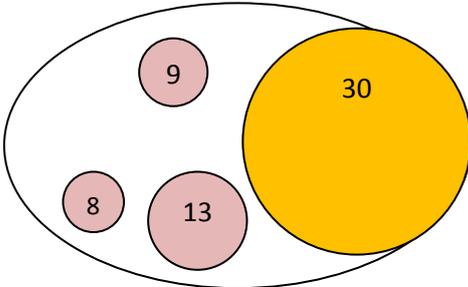
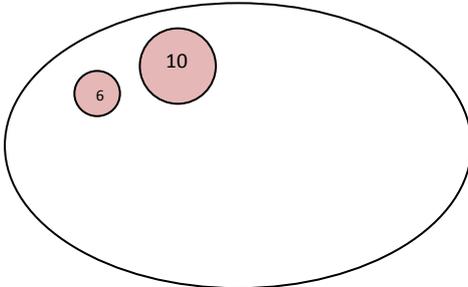
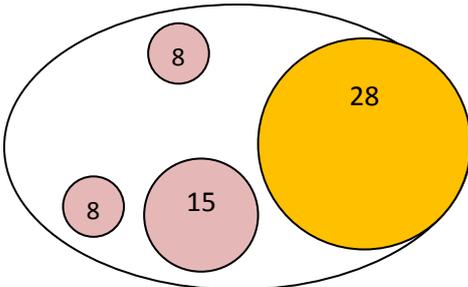
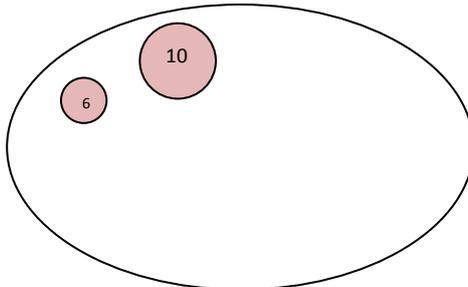
Fecha: 8/4 Día 10



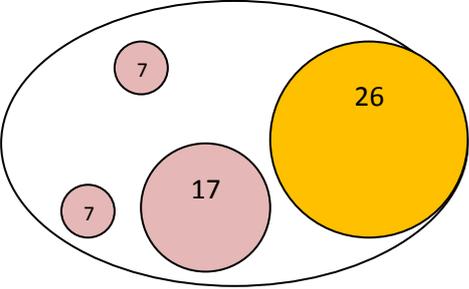
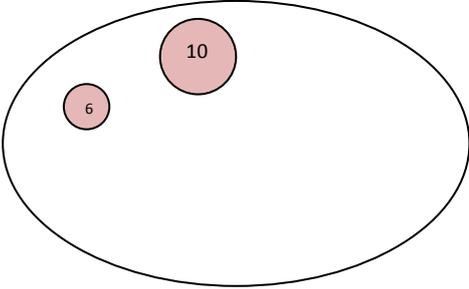
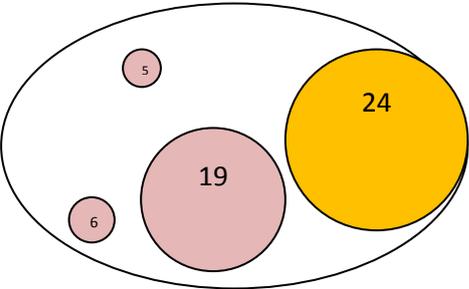
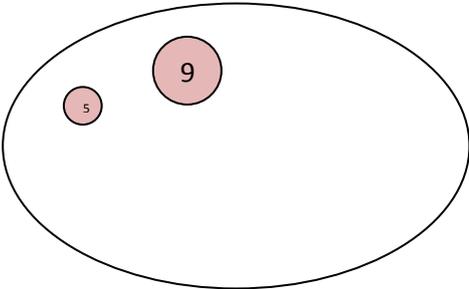
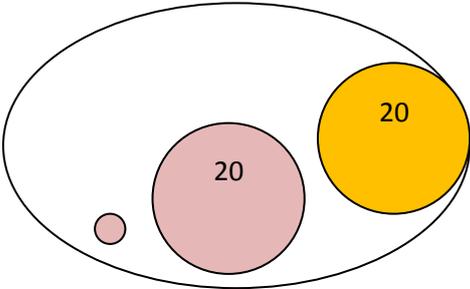
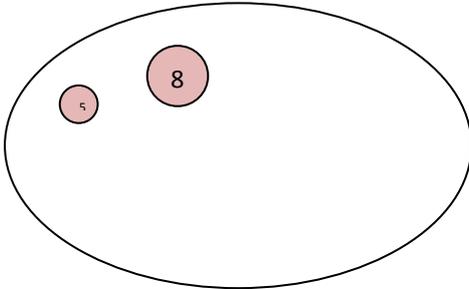
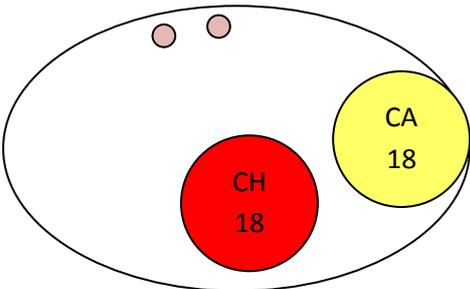
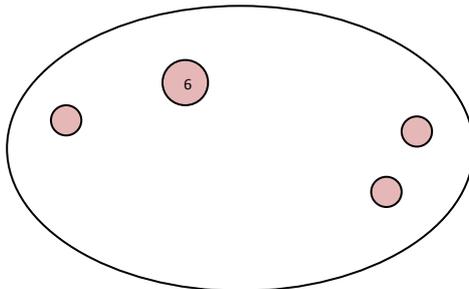
Fecha: 9/4 Día 11



Caravana: 952 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 10/4 Día 12		
		
Fecha: 11/4 Día 13		
		
Fecha: 12/4 Día 14		
		
Fecha: 13/4 Día 15		
		

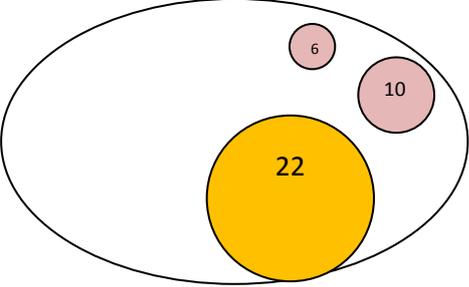
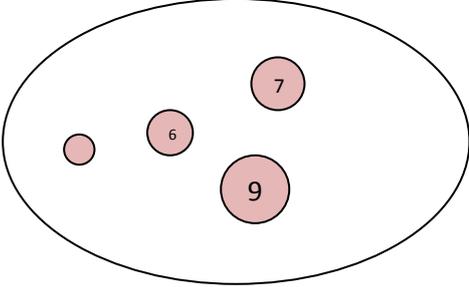
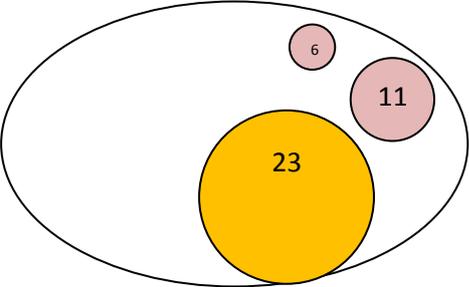
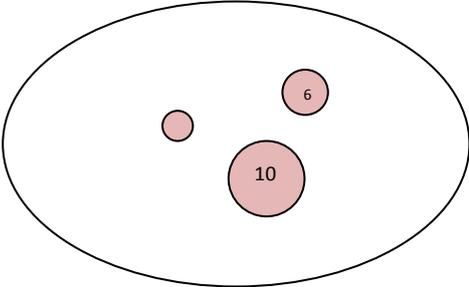
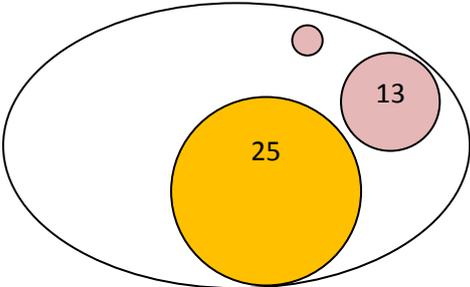
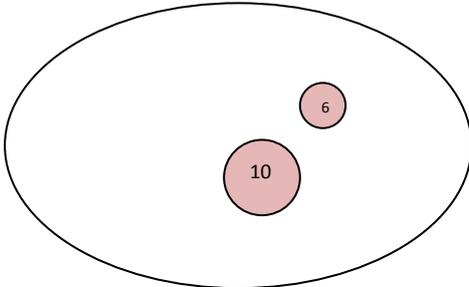
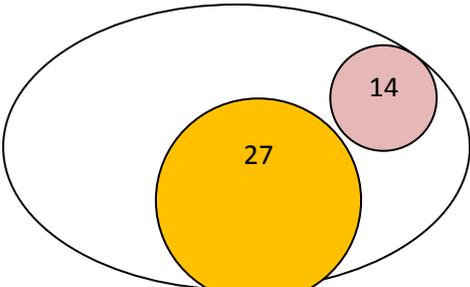
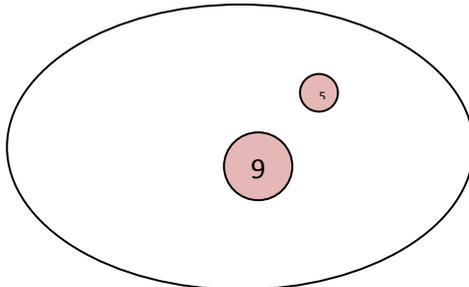
Caravana: 952 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 14/4 Día 16		
		
Fecha: 15/4 Día 17		
		
Fecha: 16/4 Día 18		
		Útero tono 3
Fecha: 17/4 Día 19		
		Útero tono 3 Celo Moco vaginal

Caravana: 831 Amarilla / 5612 Trazabilidad

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 29/3 Día 0		
		Celo
Fecha: 30/3 Día 1		
Fecha: 31/3 Día 2		
Fecha: 1/4 Día 3		

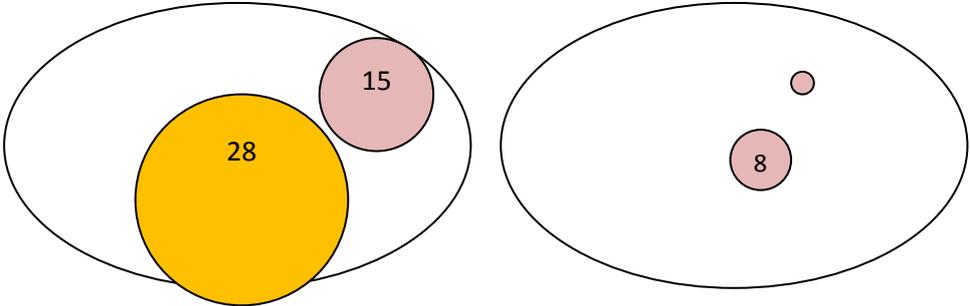
Caravana: 831 Amarilla / 5612 Trazabilidad

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 2/4 Día 4		
		
Fecha: 3/4 Día 5		
		
Fecha: 4/4 Día 6		
		
Fecha: 5/4 Día 7		
		

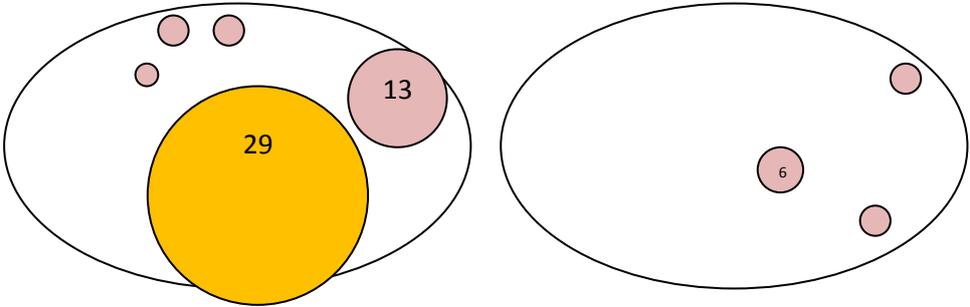
Caravana: 831 Amarilla / 5612 Trazabilidad

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

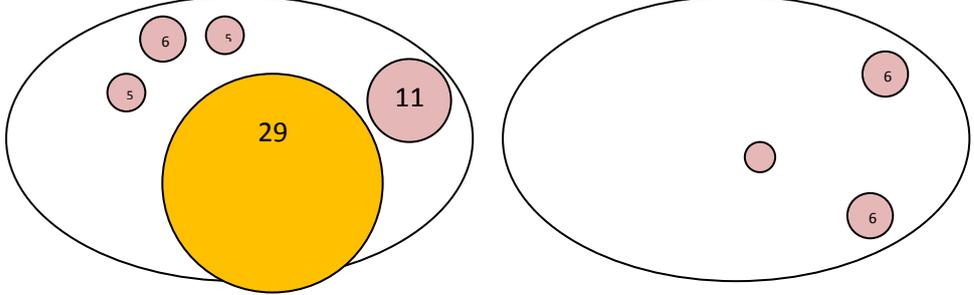
Fecha: 6/4 Día 8



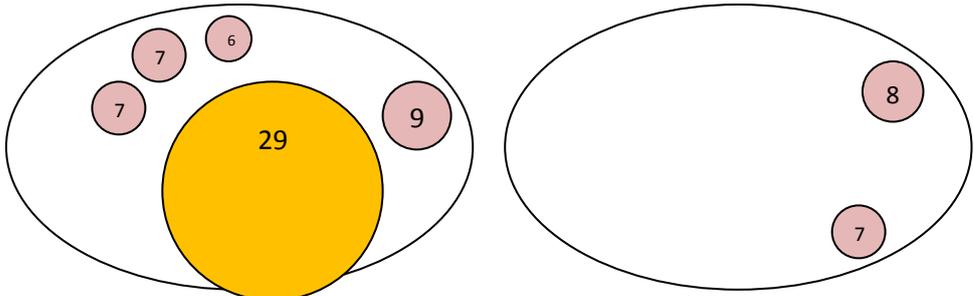
Fecha: 7/4 Día 9



Fecha: 8/4 Día 10



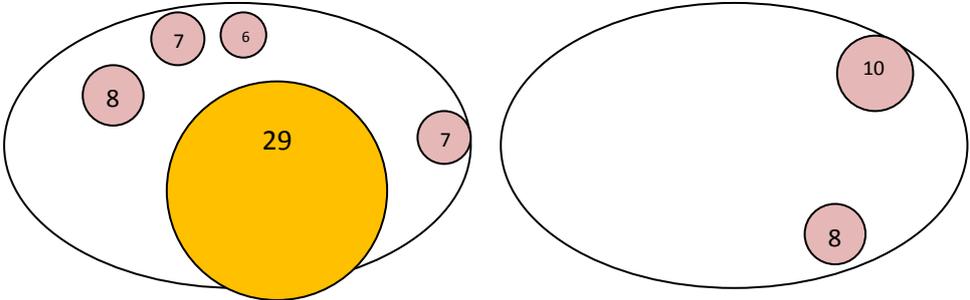
Fecha: 9/4 Día 11



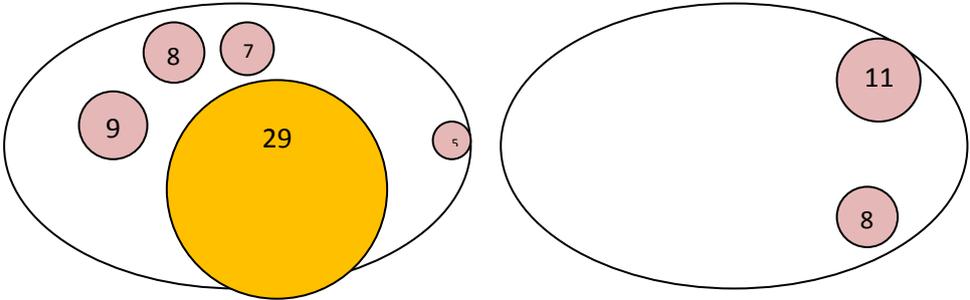
Caravana: 831 Amarilla / 5612 Trazabilidad

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

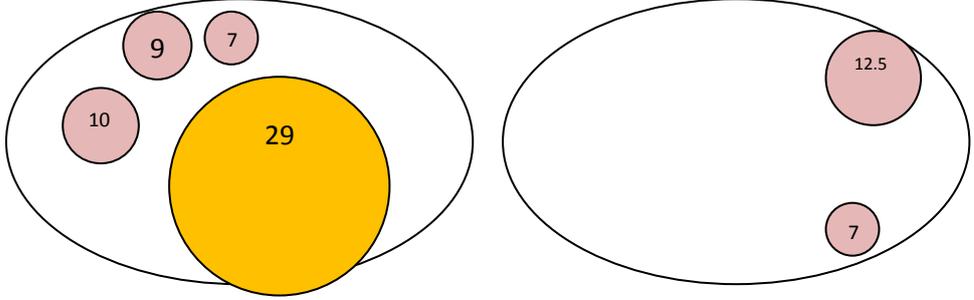
Fecha: 10/4 Día 12



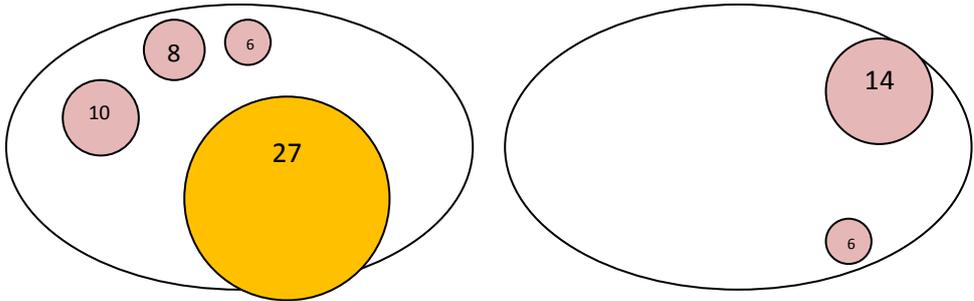
Fecha: 11/4 Día 13



Fecha: 12/4 Día 14



Fecha: 13/4 Día 15



Caravana: 831 Amarilla / 5612 Trazabilidad

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 14/4 Día 16		
Fecha: 15/4 Día 17		
Fecha: 16/4 Día 18		
		Celo

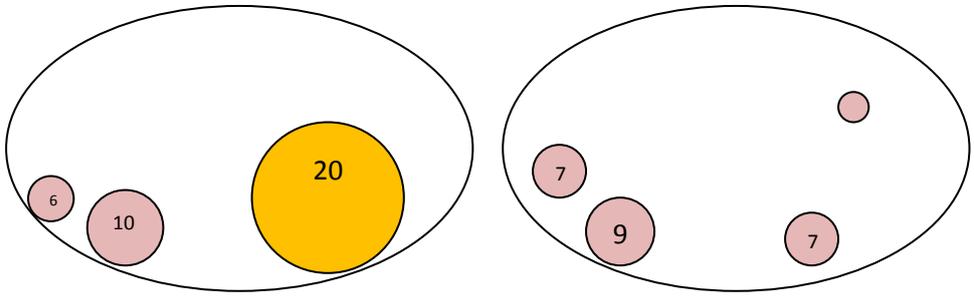
Caravana: 916 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 29/3 Día 0		
		<p>- Celos - Moco vaginal</p>
Fecha: 30/3 Día 1		
Fecha: 31/3 Día 2		
Fecha: 1/4 Día 3		

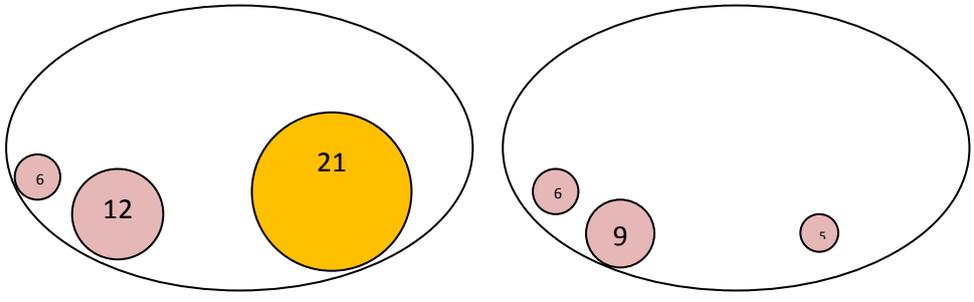
Caravana: 916 Amarilla

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

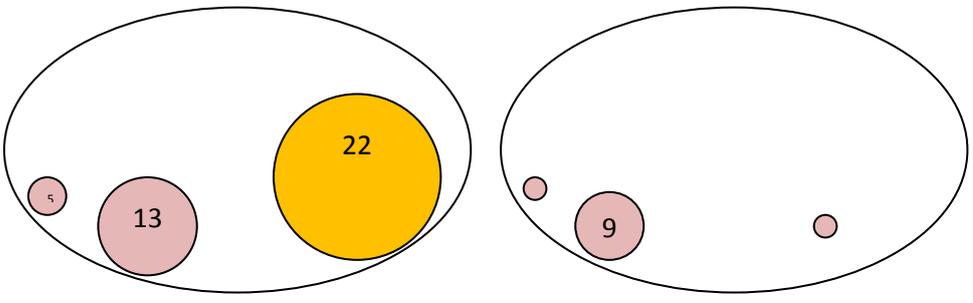
Fecha: 2/4 Día 4



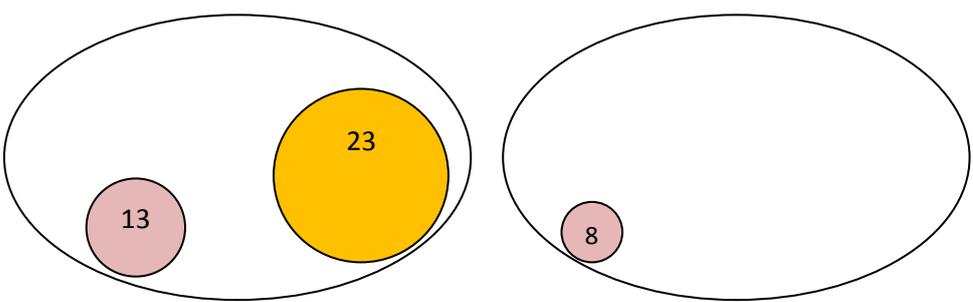
Fecha: 3/4 Día 5



Fecha: 4/4 Día 6



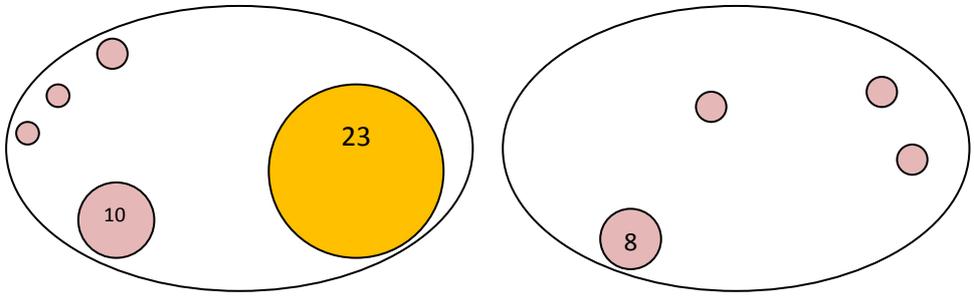
Fecha: 5/4 Día 7



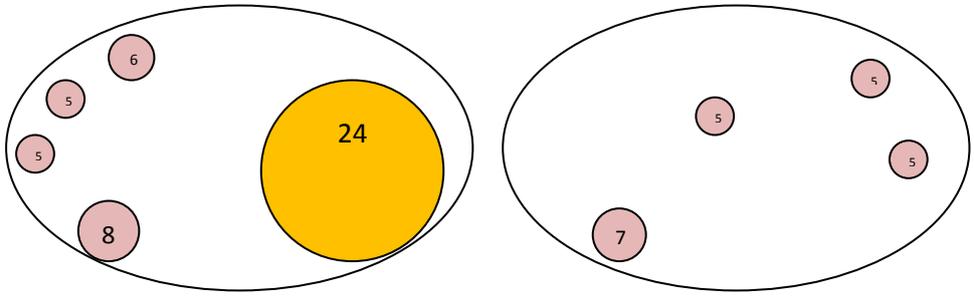
Caravana: 916 Amarilla

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

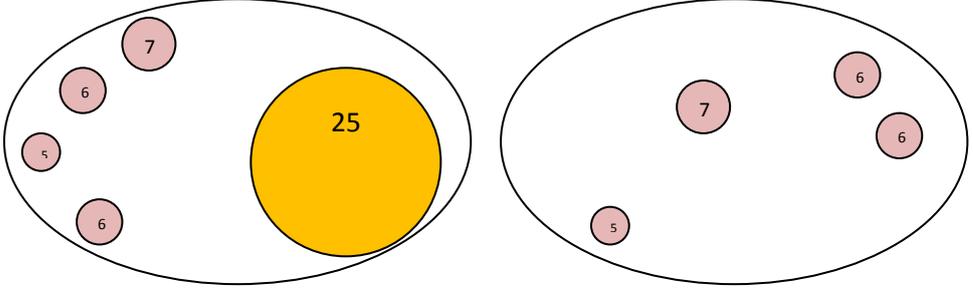
Fecha: 6/4 Día 8



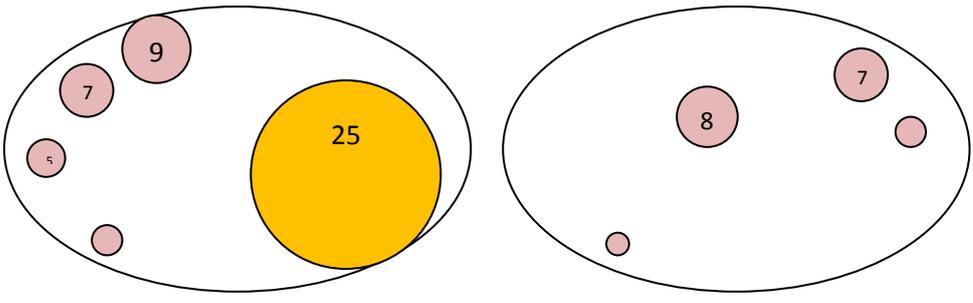
Fecha: 7/4 Día 9



Fecha: 8/4 Día 10



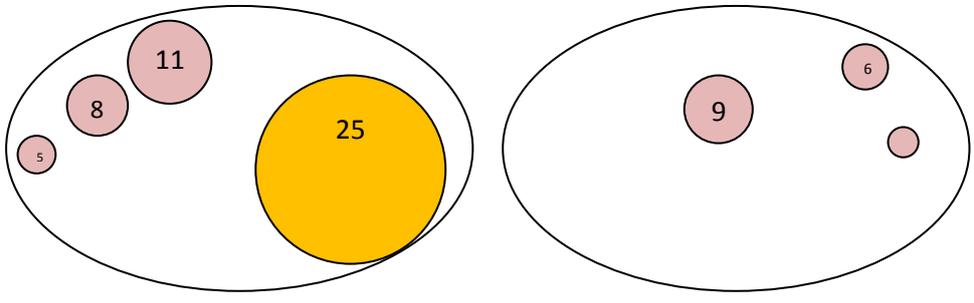
Fecha: 9/4 Día 11



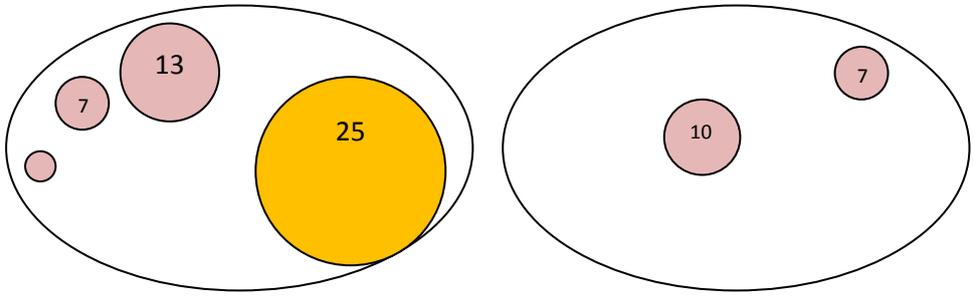
Caravana: 916 Amarilla

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

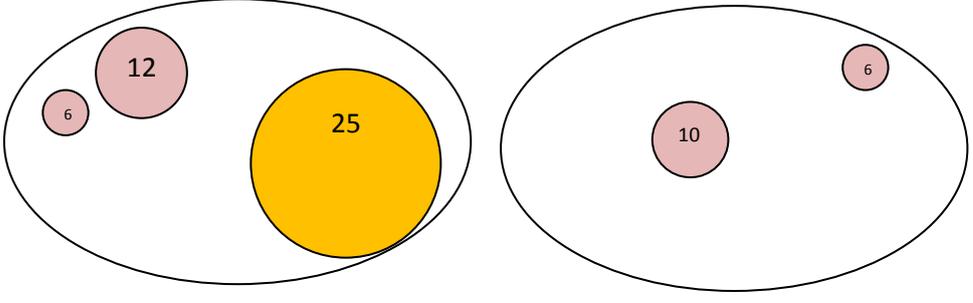
Fecha: 10/4 Día 12



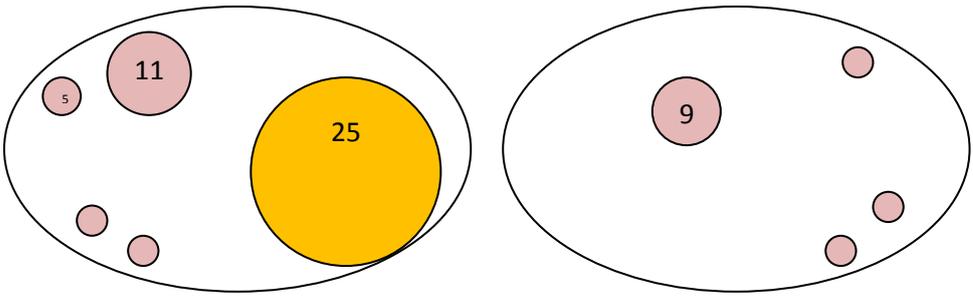
Fecha: 11/4 Día 13



Fecha: 12/4 Día 14



Fecha: 13/4 Día 15



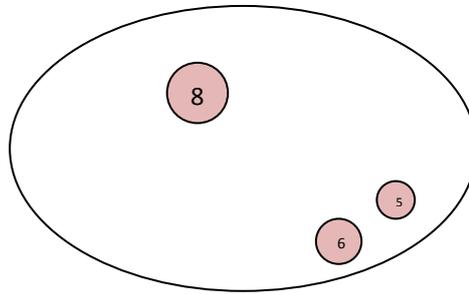
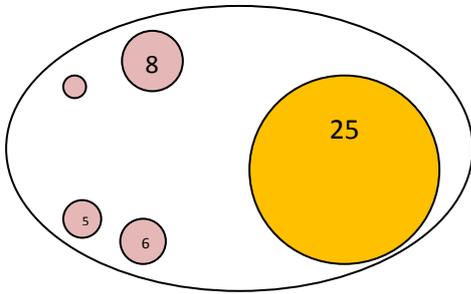
Caravana: 916 Amarilla

Ovario izquierdo

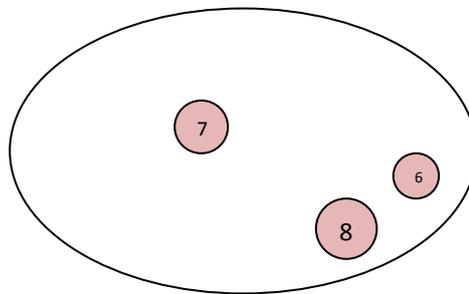
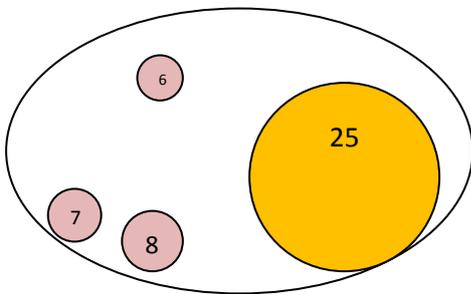
Ovario derecho

Observaciones

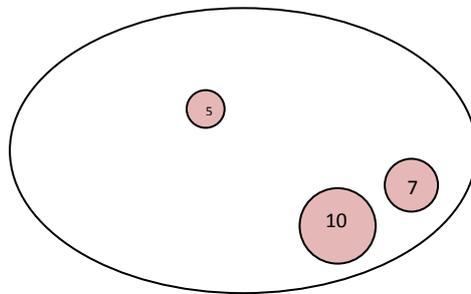
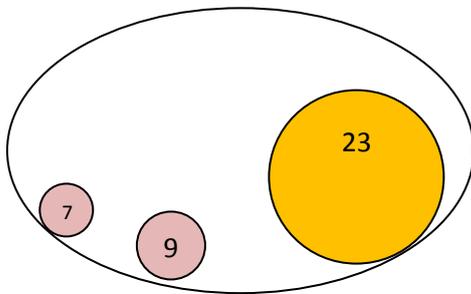
Fecha: 14/4 Día 16



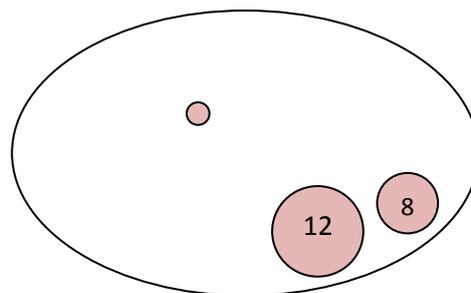
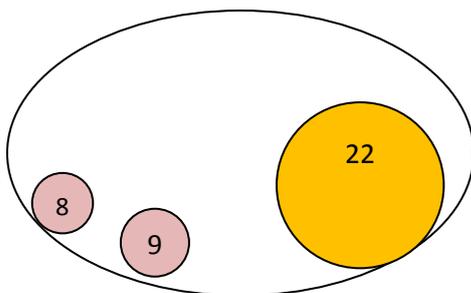
Fecha: 15/4 Día 17



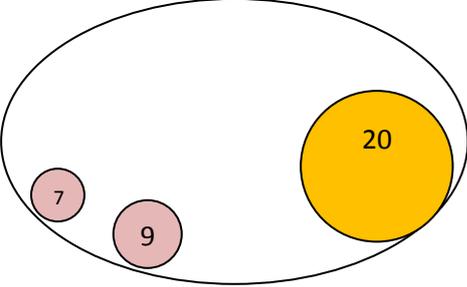
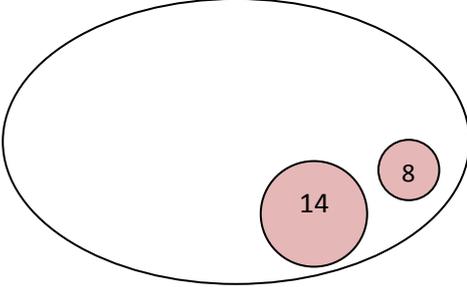
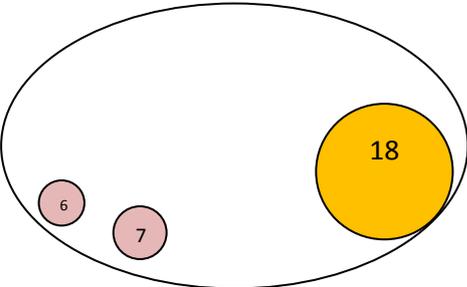
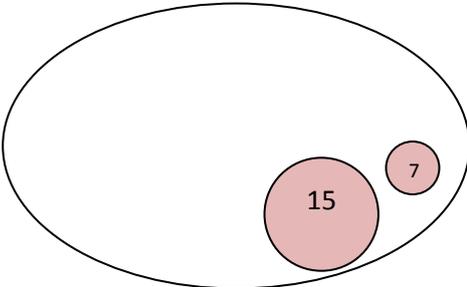
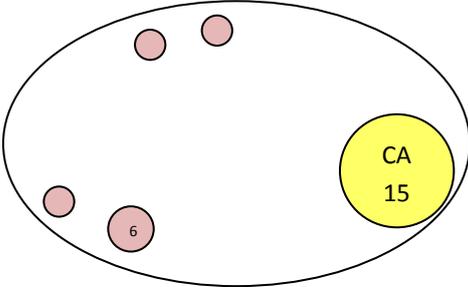
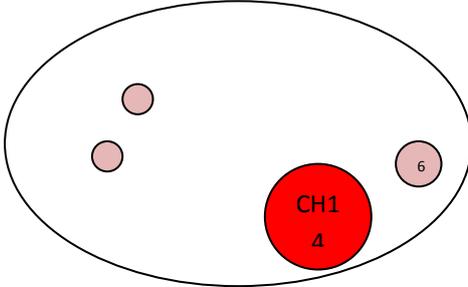
Fecha: 16/4 Día 18



Fecha: 17/4 Día 19



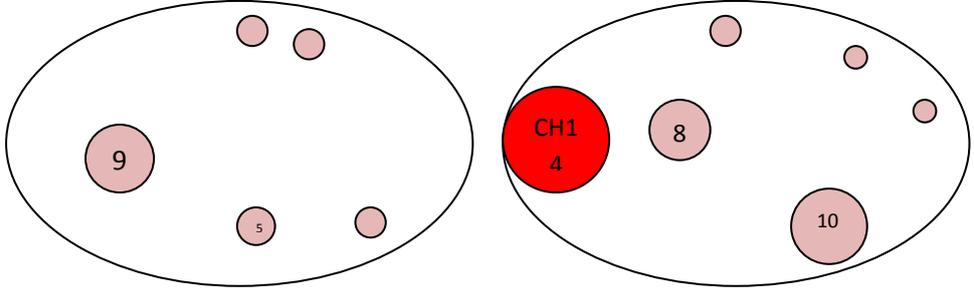
Caravana: 916 Amarilla

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 18/4 Día 20		
		
Fecha: 19/4 Día 21		
		
Fecha: 20/4 Día 22		
		- Celo - Útero tono 3

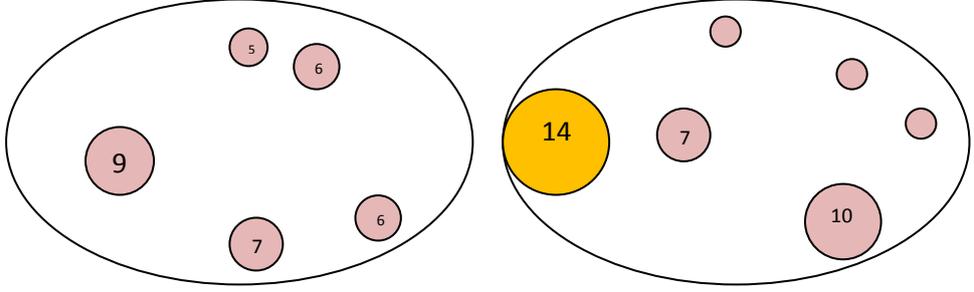
Caravana: 114 Amarilla / 5780 Trazabilidad

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

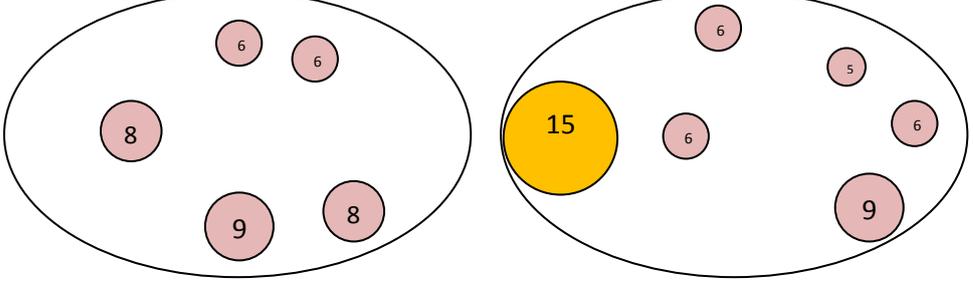
Fecha: 28/3 Día 0



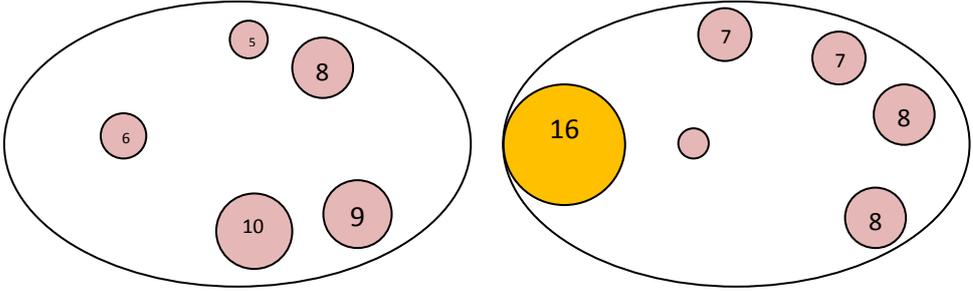
Fecha: 29/3 Día 1



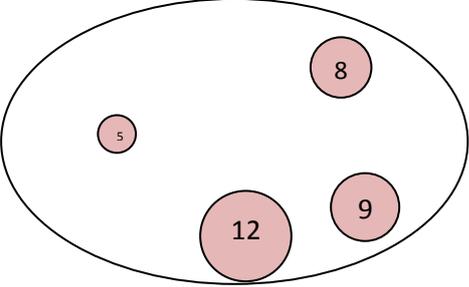
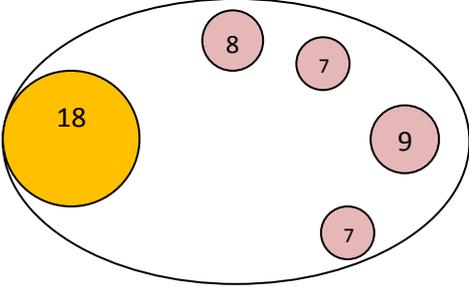
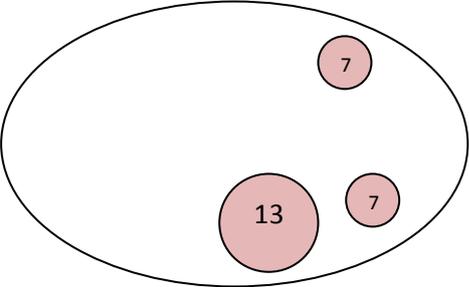
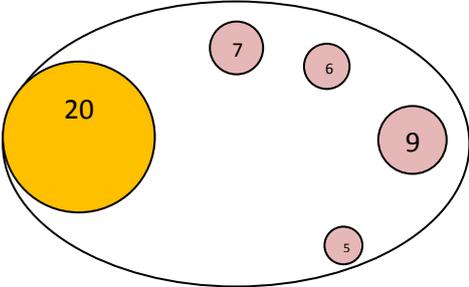
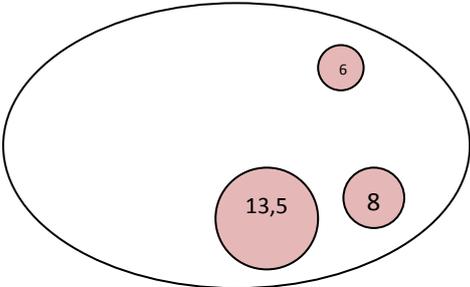
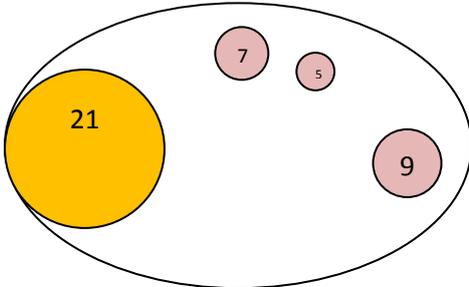
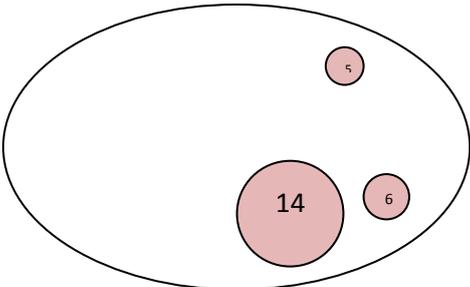
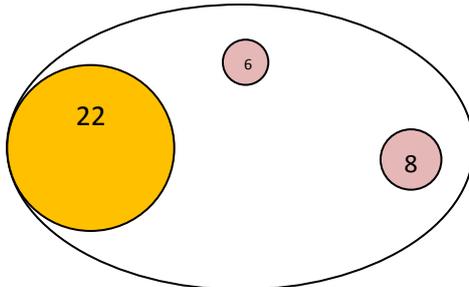
Fecha: 30/3 Día 2



Fecha: 31/3 Día 3



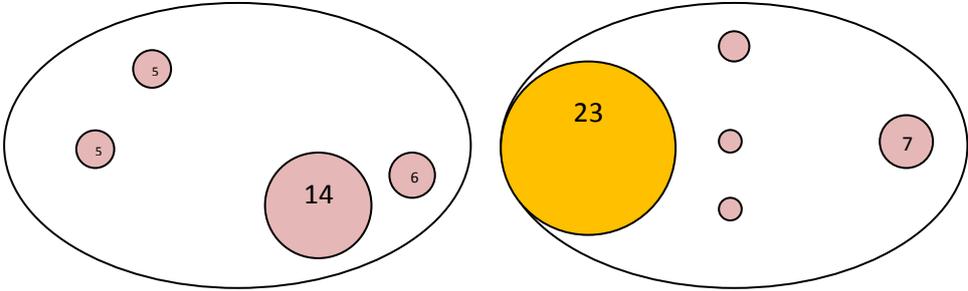
Caravana: 114 Amarilla / 5780 Trazabilidad

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 1/4 Día 4		
		
Fecha: 2/4 Día 5		
		
Fecha: 3/4 Día 6		
		
Fecha: 4/4 Día 7		
		

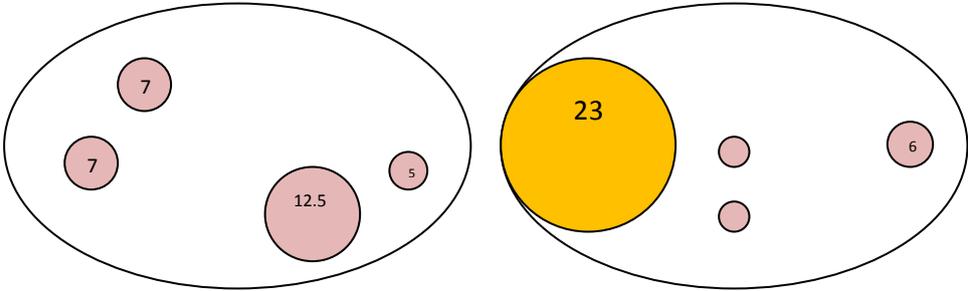
Caravana: 114 Amarilla / 5780 Trazabilidad

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

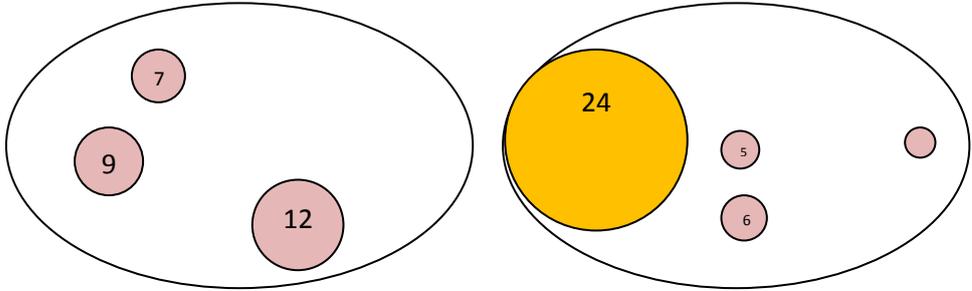
Fecha: 5/4 Día 8



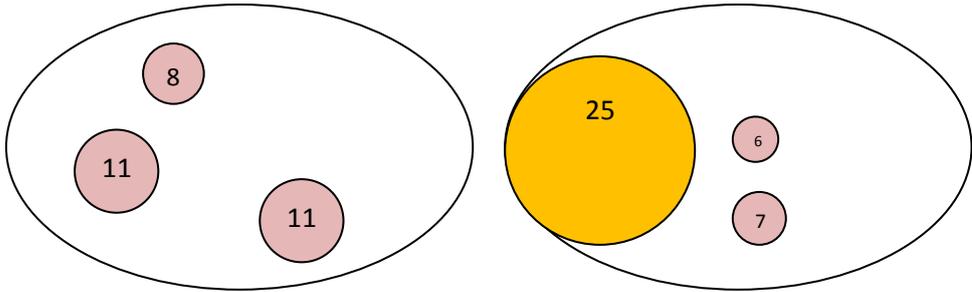
Fecha: 6/4 Día 9



Fecha: 7/4 Día 10



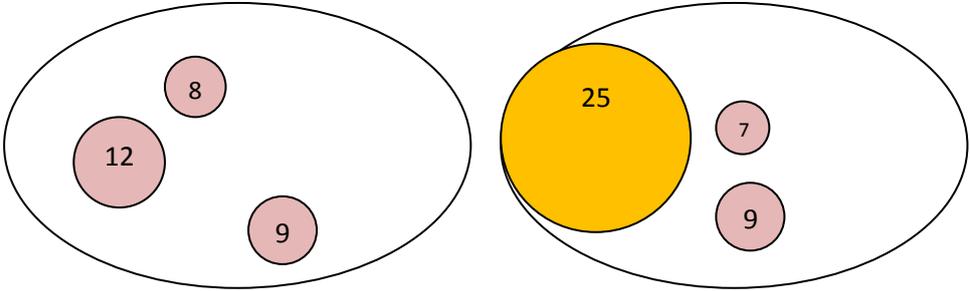
Fecha: 8/4 Día 11



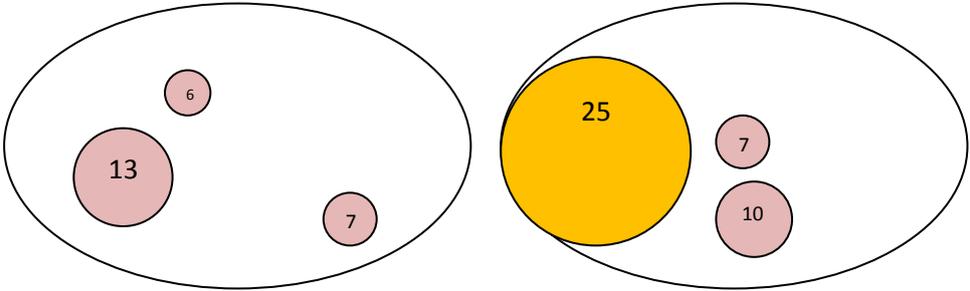
Caravana: 114 Amarilla / 5780 Trazabilidad

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

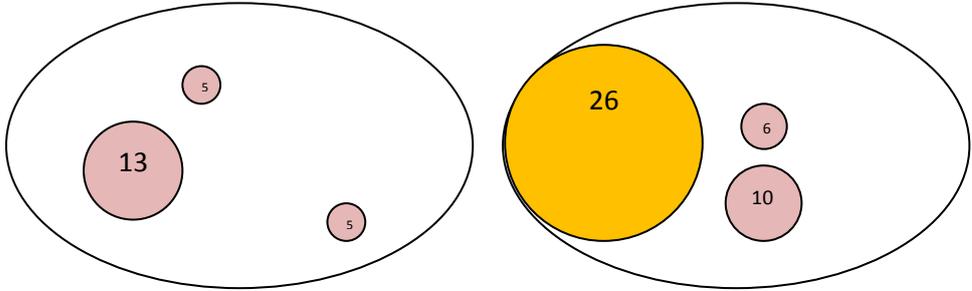
Fecha: 9/4 Día 12



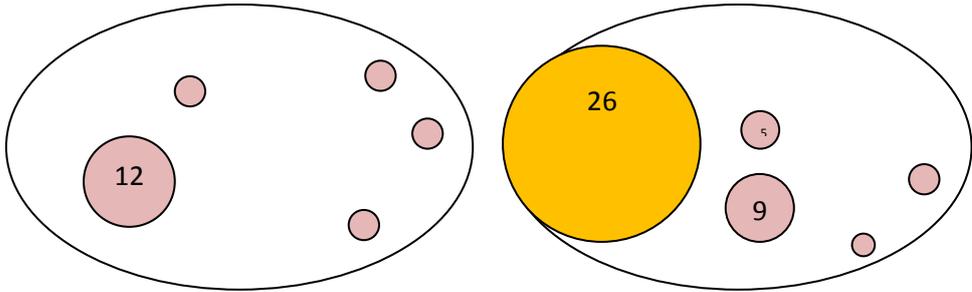
Fecha: 10/4 Día 13



Fecha: 11/4 Día 14



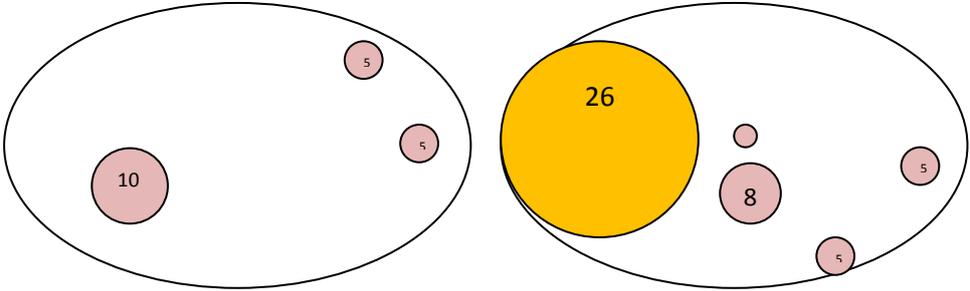
Fecha: 12/4 Día 15



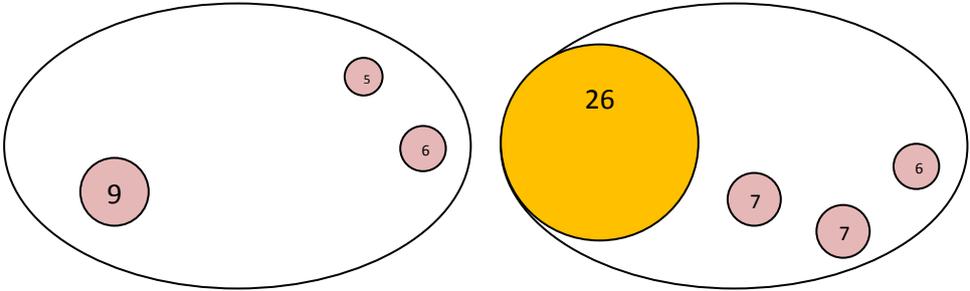
Caravana: 114 Amarilla / 5780 Trazabilidad

Ovario izquierdo Ovario derecho Observaciones

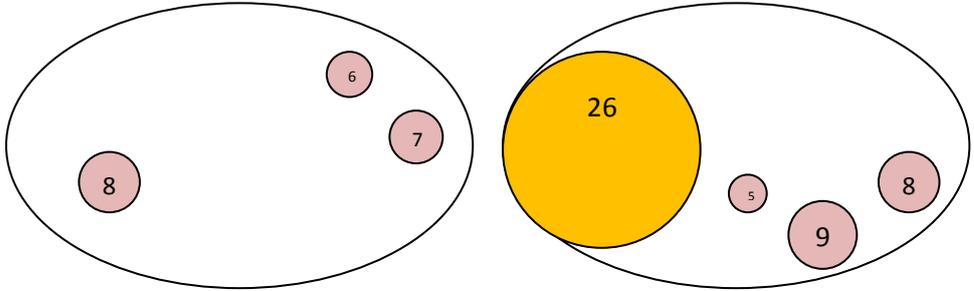
Fecha: 13/4 Día 16



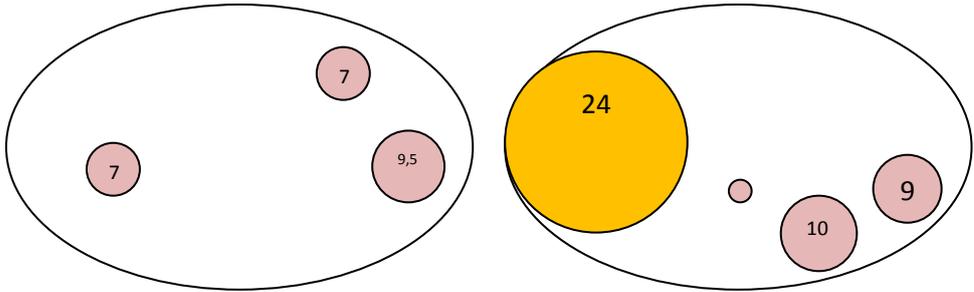
Fecha: 14/4 Día 17



Fecha: 15/4 Día 18



Fecha: 16/4 Día 19



Caravana: 114 Amarilla / 5780 Trazabilidad

Ovario izquierdo	Ovario derecho	Observaciones
Fecha: 17/4 Día 20		
Fecha: 18/4 Día 21		
		- Útero tono 3
Fecha: 19/4 Día 22		
		- Celo - Útero tono 3 - Moco vaginal

