

Grado de desarrollo del folículo preovulatorio y su relación con el tamaño del cuerpo lúteo y la producción de progesterona en las razas Romosinuano (RS) y Brahman (Br)

A. Vejarano^{1*}, A. Hernández²

Artículo recibido: 6 de abril de 2020 - Aprobado: 23 de noviembre de 2020

RESUMEN

Para comparar en los folículos preovulatorios de hembras bovinas de las razas Brahman (Br) y Romosinuano (RS) el desarrollo de los diferentes componentes foliculares, como el tamaño del antro folicular, el grosor y el volumen ocupado por la capa de células de la granulosa (CG) y de la teca interna (TI), y su posible relación con el desarrollo del cuerpo lúteo (CL) y la producción de progesterona P_4 , se utilizaron 5 hembras de la raza RS y 5 de la raza Br. A estas se les realizó seguimiento ecográfico durante 2 ciclos estrales y se les efectuó muestreo de suero sanguíneo para determinar por Elisa los niveles de P_4 . En el tercer estro se les extirpó el ovario que contenía el folículo preovulatorio y se realizó un corte diametral sobre el estigma del folículo para seccionarlo en 2 partes iguales. En una de las partes se hicieron cortes histológicos y se determinó la morfometría folicular. La duración del ciclo estral en las hembras de la raza Br osciló entre 18 y 21 días, con promedio de $19,9 \pm 1,6$ días, y en las vacas RS entre 18 y 24 días, con un promedio $21,2 \pm 1,69$ días. La duración del estro fue de $13,9 \pm 6,98$ y $9,60 \pm 4,72$ h para las razas RS y Br, respectivamente. El intervalo estro-ovulación fue de $21,20 \pm 5,07$ h para los animales de la raza Br y de $24,40 \pm 6,43$ para los RS. No se registraron diferencias entre razas ni en el grosor (RS: $55,12 \pm 6,46$ μm vs. Br: $49,48 \pm 17,07$ μm), $p > 0,05$, tampoco en el volumen ocupado por la capa de CG (RS: $27,93 \pm 6,11$ mm^3 vs. Br: $25,40 \pm 13,85$ mm^3) de los folículos preovulatorios $p < 0,05$, en el grosor (RS: $122,50 \pm 20,53$ μm vs. Br: $129,61 \pm 84,85$ μm) o en el volumen (RS: $64,97 \pm 19,71$ mm^3 vs. Br: $59,83 \pm 25,67$ mm^3) de las células de la TI. El máximo desarrollo de los CL para la totalidad de las hembras se alcanzó el día $12,6 \pm 4,05$ (día 0 = estro), con un diámetro promedio de $22,92 \pm 3,60$ mm. Para las de la raza RS el diámetro máximo fue $23,06 \pm 3,9$ mm y se observó en promedio el día $14,88 \pm 3,4$. Para las de la raza Br fue el día $10,00 \pm 3,16$ con un promedio de $22,75 \pm 3,16$ mm. En ese día, la concentración media de P_4 fue de $5,37 \pm 1,38$ ng/ml para la raza RS y $5,74 \pm 0,89$ ng/ml para la raza Br. No se presentaron diferencias significativas entre razas ($p > 0,05$). Se concluyó que no existen diferencias en los eventos fisiológicos estudiados entre las razas RS y Br. Los hallazgos del presente estudio, sin duda, pueden servir de base para futuros análisis en los bovinos residentes en el trópico.

Palabras clave: bovinos, reproducción, granulosa, teca interna.

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima, Barrio Santa Elena, Ibagué, Colombia. *avejaran@ut.edu.co

² Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

Degree of development of the preovulatory follicle and its relationship with corpus luteum size and progesterone production in the Romosinuano (RS) and Brahman (Br) breeds

ABSTRACT

To compare in the preovulatory follicles of bovine females of the Brahman (Br) and Romosinuano (RS) breeds the development of the different follicular components, such as the size of the follicular antrum, the thickness and volume occupied by the granulosa (CG) and theca interna cells (TI) layers and their possible relationships with the development of the corpus luteum (CL) and progesterone (P_4) production, 5 RS and 5 Br females were used; ultrasound follow-up was performed during 2 estrous cycles and blood serum sampling was carried out to determine progesterone (P_4) levels by Elisa, at the third estrus, the ovary containing the preovulatory follicle was removed, and a diametral cut was made on the stigma of the follicle to divide it into 2 equal parts. Histological sections were made of one of the parts and follicular morphometry was determined. Duration of the estrous cycle in Br females ranged between 18 and 21 days, with an average of $19,9 \pm 1,6$ days and between 18 and 24 with an average of $21,2 \pm 1,69$ days for RS cows. Estrus duration was $13,9 \pm 6,98$ and $9,60 \pm 4,72$ h for RS and Br breeds, respectively. The estrus-ovulation interval was $21,20 \pm 5,07$ h for the Br breed animals and $24,40 \pm 6,43$ RS. There were no differences between breeds or in thickness (RS: $55,12 \pm 6,46 \mu\text{m}$ vs. Br: $49,48 \pm 17,07 \mu\text{m}$) $p > 0,05$, nor in the volume occupied by the granulosa cells layer (RS: $27,93 \pm 6,11 \text{ mm}^3$ vs. Br: $25,40 \pm 13,85 \text{ mm}^3$) of pre-ovulatory follicles; neither in the thickness (RS: $122,50 \pm 20,53 \mu\text{m}$ vs. Br: $129,61 \pm 84,85 \mu\text{m}$) nor in the volume (RS: $64,97 \pm 19,71 \text{ mm}^3$ vs. Br: $59,83 \pm 25,67 \text{ mm}^3$) of the internal theca cells; $p < 0,05$. The maximum CL development for all the females was observed on day $12,6 \pm 4,05$ (day 0 = estrus), with an average diameter of $22,92 \pm 3,60$ mm. For those of the RS breed the maximum diameter was observed on average on day $14,88 \pm 3,4$, with $23,06 \pm 3,9$ mm, while for those of the Br breed it was day $10,00 \pm 3,16$ with an average diameter of $22,75 \pm 3,16$ mm; at this time the mean progesterone concentration was $5,37 \pm 1,38$ ng/ml for the RS breed and $5,74 \pm 0,89$ ng/ml for the Br breed. There were no significant differences between breeds (p -value: 0,5561). It was concluded that there are no differences in the physiological events studied between the studied breeds. Present results, undoubtedly, might serve as basis to future studies in bovines in tropical zones.

Keywords: cattle, reproduction, granulosa, theca interna.

INTRODUCCIÓN

El cuerpo lúteo (CL) del bovino es la glándula transitoria productora de P_4 (Shrestha *et al.* 2019), encargada del mantenimiento de la gestación (Senger 2012), cuya vida útil no solo está controlada por la hormona luteinizante (LH), que

actúa como una hormona luteotrófica, sino también por la prostaglandina F₂ alfa ($PGF_2\alpha$) que termina la función y la presencia de CL (Meidan *et al.* 2017).

Existe controversia en torno a si un CL de conformación grande estaría asociado o no con concentraciones elevadas de P_4

plasmáticas, ya que algunos investigadores así lo han establecido, al menos en los primeros días de gestación (Mann 2009), y se ha asociado la intensidad de la expresión del estro con el tamaño folicular, el volumen del CL y las concentraciones plasmáticas de progesterona (Oosthuizen *et al.* 2020; Rodrigues *et al.* 2018).

Se encontró que la relación entre el peso del CL y la concentración de progesterona en el plasma dependería de la condición en el balance energético del animal (Yung *et al.* 1996) o de su condición fisiológica, pues se hallaron relaciones directas en novillas y vacas lactantes, pero no en vacas no lactantes en un mismo estudio (Sartori *et al.* 2002). También se reportó una fuerte relación entre el peso del CL y los niveles plasmáticos de P_4 en el día 5 de la fase lútea (Green *et al.* 2005). Sin embargo, en otros estudios se estableció que esta relación se pierde en el día 8 (Robinson *et al.* 2005).

El incremento en el número de células de la granulosa (CG) del folículo preovulatorio podría resultar en un mayor número de células luteales grandes, con un subsecuente incremento en el tamaño del CL e incremento en la secreción de P_4 (Sartori *et al.* 2002), puesto que el nuevo CL se desarrolla a partir de las células foliculares restantes después de la expulsión del ovocito (Shrestha *et al.* 2019).

Las CG son células somáticas y se consideran el tipo de células ováricas más importantes que rodean, apoyan y nutren al ovocito en desarrollo y proporcionan un microambiente adecuado para su maduración (Edson *et al.* 2009); se han resaltado diversos pasos transcripcionales que las CG deben completar antes de la ovulación y se han identificado transcritos asociados con el estado de competencia del ovocito (Gilbert 2011); cualquier alteración

de la calidad de las CG y su capacidad de proliferación también puede tener efectos sobre el desarrollo del folículo y puede interrumpir la maduración de los ovocitos y, en consecuencia, dar lugar a un desarrollo embrionario deteriorado con resultados insatisfactorios, revisado por Khan *et al.* 2020.

En consecuencia, una mayor comprensión de los eventos fisiológicos que suceden en cada uno de los compartimentos foliculares en las diferentes etapas de foliculogénesis permitirá una mejora no solo en la intervención de esos procesos con fines productivos, sino que facilitará avances en los resultados de los procedimientos biotecnológicos aplicados a la reproducción de los animales domésticos de interés zootécnico, particularmente en bovinos de las razas RS (raza criolla colombiana en peligro de extinción) y Br (raza de gran participación en la ganadería colombiana), en las cuales a la fecha no se han estudiado.

La realización de investigaciones que contribuyan al conocimiento de la fisiología de los animales en el trópico es importante, ya que si bien existe abundante información referente a los procesos fisiológicos acontecidos durante el ciclo estral de la hembra bovina (Galina y Arthur 1990) y a numerosos factores que se relacionan con el desarrollo folicular, esta ha sido generada en países con condiciones medioambientales diferentes o con animales de otra composición racial. Muchos estudios *in vitro* sobre el crecimiento folicular se enfocaron en la replicación de las CG, mientras que los estudios *in vivo*, mediante el uso de ultrasonografía, se han centrado en la expansión del antro folicular y su fluido (Rodgers e Irving-Rodgers 2010). Sin embargo, en la literatura consultada no se encontraron

reportes en los cuales se estudie en las razas RS y Br el efecto del tamaño de los componentes foliculares sobre el desarrollo y función esteroidogénica del CL en vacas mantenidas bajo condiciones propias del bosque seco tropical.

Con este trabajo se buscó comparar en folículos preovulatorios de hembras bovinas de las razas Br y RS el desarrollo de diferentes componentes foliculares, tamaño del antro folicular, el grosor y el volumen ocupado por la capa de células de la granulosa y de la teca interna, y su posible relación con el desarrollo máximo del CL y la producción de P_4 .

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo contó con la aprobación del comité de bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia y se desarrolló en el Centro Universitario Regional del Norte (CURDN) de la Universidad del Tolima, en condiciones de temperatura media de 28,2°C, precipitación anual promedio de 1,791 mm, humedad relativa: 71% y altitud entre 275-550 m s. n. m. y está clasificado como bosque seco tropical.

Se utilizaron 5 hembras de la raza RS y 5 de la raza Br con edad entre 3 y 5 años, que habían registrado por lo menos un parto como indicador de su fertilidad, clínicamente sanas y cíclicas, las cuales permanecieron en potreros establecidos en pasto Ángleton (*Dichanthium aristatum*) y contaron con sal mineralizada y agua a voluntad.

Para verificar su normal ciclicidad ovárica, a las 10 hembras se les realizó seguimiento ecográfico durante 2 ciclos estrales, mediante el uso de un equipo Aquila Pro, con sonda microconvex con

frecuencia de 7,5 MHz y guía de aspiración folicular de Pie Medical® (<http://www.piemedicalimaging.com/>). Se practicó la técnica de registro de información descrita por Pierson y Ginther (1988). Las imágenes se grabaron en una computadora portátil con la ayuda de una tarjeta capturadora de video Pinnacle Studio MovieBox Ultimate 12®, para posteriores análisis. Se elaboraron los correspondientes mapas ováricos para establecer el momento de la identificación del cuerpo lúteo como evidencia de ovulación, en el lugar donde se encontraba el folículo ovulatorio.

Para establecer las concentraciones séricas de P_4 durante los 2 ciclos estrales, se realizó colecta de muestras sanguíneas por venopunción de la vena caudal media con tubos estériles al vacío. El suero sanguíneo se obtuvo por centrifugación a 1500 rpm durante 10 minutos y los sueros obtenidos se congelaron a -20°C hasta su análisis. La técnica utilizada fue la de Elisa, se manejó kit comercial DS-EIA-Steroid-Progesterone, que emplea calibradores para una curva referencial, con concentraciones de 0, 1,5, 10, 25, 50 y 100 nm/l (0, 0,47, 3,14, 7,85, 15,7 y 31,4 ng/ml), procedimiento previamente estandarizado en el laboratorio de hormonas de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia. Se siguió el protocolo descrito por el fabricante. El coeficiente de variación intraensayo fue de 3,6 y el de interensayo de 4,2.

Para facilitar la detección de estros, los animales fueron identificados mediante numeración con pintura en los flancos y se realizó por observación directa en los potreros que habitualmente pastoreaban, entre las 05:30 y las 06:00 h, entre las 09:30 y las 10:00, entre las 13:30 y las 14:00, entre las 17:30 y las 18:00 y entre las 21:30 y las 22:00, con la ayuda de un

macho presente en el hato, con desviación lateral del prepucio.

A partir de la observación de la finalización de los signos de estro de cada uno de los celos, momento determinado por la desaparición del reflejo de inmovilidad al intento de monta, se realizó ecografía con el mismo equipo y transductor transrectal con frecuencia de 8,0 MHz cada 4 h hasta que se presentara la ovulación (ausencia del folículo preovulatorio), con el propósito de precisar el promedio del lapso transcurrido entre el inicio de los signos de celo y la ovulación en cada una de las hembras objeto de estudio. El tiempo de ovulación se definió como el tiempo de desaparición del folículo, menos 2 h (Walker *et al.* 1996).

Durante el tercer estro, cuando por ultrasonografía se estableció la presencia de un folículo preovulatorio, a las hembras se les extirpó el ovario que contenía

dicho folículo, mediante abordaje lateral derecho. Se practicó la técnica descrita por Peiró *et al.* (2009).

Para el procedimiento quirúrgico las vacas fueron sedadas con xilacina aplicada por vía intramuscular (IM) a una posología de 0,1 a 0,2 mg/kg y se les aplicó anestesia paravertebral con lidocaína al 2%.

Una vez obtenidos los ovarios, se realizó un corte diametral sobre el estigma del folículo preovulatorio para seccionarlo en 2 partes simétricas.

Una de las partes del folículo preovulatorio se conservó en solución acuosa de formalina al 10% de pH 7,4 hasta su procesamiento en el Laboratorio de histotécnica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad del Tolima.

En el sitio de máximo diámetro folicular se realizaron 5 cortes consecutivos de 5 µm de grosor, los cuales se tiñeron con

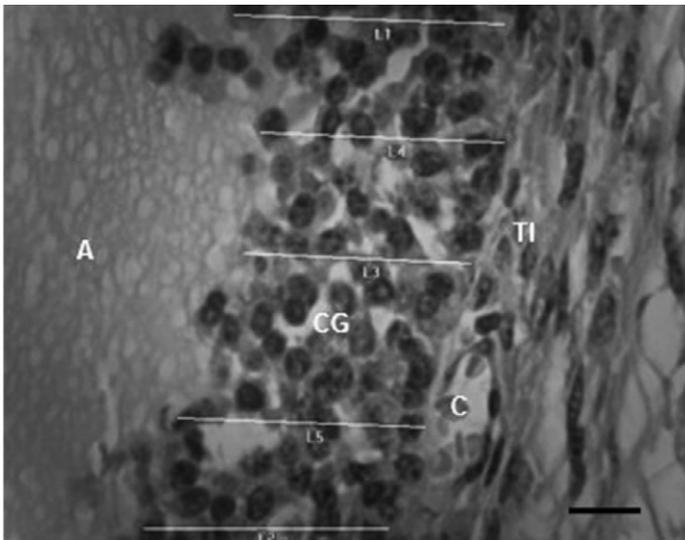


FIGURA 1. Medidas de la capa de cg en folículo ovárico de hembra bovina de la raza Brahman. Barra de escala = 10 µm. Antro (A), células de la granulosa (CG), células de la teca interna (TI), capilar (C) Fuente: elaboración propia.

hematoxilina y eosina (H&E). Se siguieron las técnicas estandarizadas en el laboratorio. La morfometría folicular se determinó en el laboratorio de reproducción animal de la FMVZ de la Universidad del Tolima con microscopio de luz a 40x y la ayuda del *software* Image Pro Plus; la escala del *software* fue calibrada (figura 1).

Para cada corte se estableció como radio del antro folicular el valor del diámetro, obtenido mediante la última ecografía previa a la extirpación del ovario, dividido en 2 ($r = D / 2$).

Para deducir el volumen ocupado por las CG y el de la TI, se calculó el radio total del folículo. Para esto, se adicionó al radio del antro folicular el promedio del grosor de las capas de CG y de la TI.

Una vez obtenido el radio total, asumiendo una forma perfectamente esférica de los folículos, se utilizó la fórmula de la esfera para el cálculo del volumen del antro: $v = 4/3 \cdot \pi \cdot r^3$ (Rodrigues *et al.* 2018).

El volumen ocupado por las capas de CG y de la TI del folículo se calculó por diferencias entre el volumen del folículo completo, el volumen ocupado por el antro folicular y el volumen ocupado por el antro folicular más la capa de CG.

El análisis estadístico de los resultados se realizó por análisis exploratorio de datos. Se aplicó la prueba de T de Student y se realizaron análisis de correlación de Pearson, mediante el *software* Info Stat, versión 2008 (Di Rienzo *et al.* 2008).

RESULTADOS

Parámetros del periodo interestros

Una vez realizado el seguimiento ecográfico a las hembras de las 2 razas estudiadas, se determinaron los valores promedio del periodo interestro, duración del estro, tiempo de

ovulación y tamaño del folículo preovulatorio. Estos valores se presentan en la tabla 1.

En la duración de ciclo estral no hubo diferencias entre razas ($p > 0,05$). Para la raza RS se observaron valores promedios de $21,2 \pm 1,69$ días, con variaciones entre 18 y 24 días y para Br $19,9 \pm 1,60$ días con variaciones entre 17 y 21 días (figura 2).

La duración del estro de $13,9 \pm 6,98$ y $9,60 \pm 4,72$ h para las razas RS y Br, respectivamente, fue igual en promedio ($p > 0,05$). En la raza RS se presentaron variaciones entre 4 y 24 h, mientras que en la raza Br se observaron estros de entre 4 h y 19 h (figura 3).

Se observó, además, tendencia a una mayor aparición de estros durante las primeras horas de la mañana en la raza RS, 46,66% vs. 20% en la raza Br. No obstante, al totalizar los estros observados a primera hora en la mañana, es decir, con inicio en horas de la madrugada, y relacionarlos con los observados con inicio en horas de la noche para ambas razas, se encontró en ambos casos 7/15 celos; es decir, 46,66% de los estros iniciaron en horas de la noche. No se observaron estros anovulatorios en ninguna de las 2 razas estudiadas, ni ovulaciones sin evidencia de estro.

El tiempo transcurrido desde observación de los primeros signos del estro hasta la ovulación, fue de $21,20 \pm 5,07$ h para los animales de la raza Br, con variaciones desde 17 hasta 31 h y de $24,40 \pm 6,43$ h para los de la raza RS con un valor mínimo de 16 h y uno máximo de 35. No se observó diferencia estadísticamente significativa entre las 2 razas ($p > 0,05$).

La concentración media de progesterona sérica en este día para las hembras de los 2 grupos raciales fue de $0,51 \pm 0,30$ ng/ml para las de la raza RS y de $0,61 \pm 0,27$ para las de la raza Br. No se detectaron diferencias significativas entre las 2 razas ($p > 0,05$).

TABLA 1. Duración promedio del ciclo estral y estro, diámetro medio de vacas Romosinuano y Brahman bajo condiciones de bosque seco tropical (bs-T)

	Duración promedio del ciclo estral (días)	Duración promedio del estro (horas)	Diámetro promedio de los folículos preovulatorios (mm)
Romosinuano	21,2 ± 1,69	13,9 ± 6,98	12,39 ± 1,66
Brahman	19,9 ± 1,60	9,60 ± 4,72	11,98 ± 2,20

Fuente: elaboración propia.

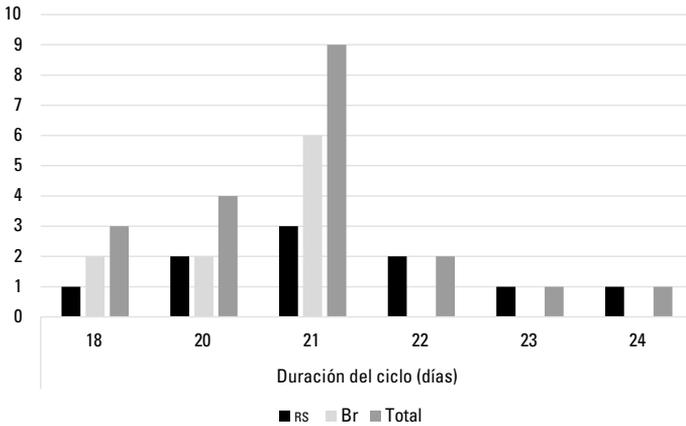


FIGURA 2 . Distribución promedio de la duración del ciclo estral en las razas RS y Br

Fuente: elaboración propia.

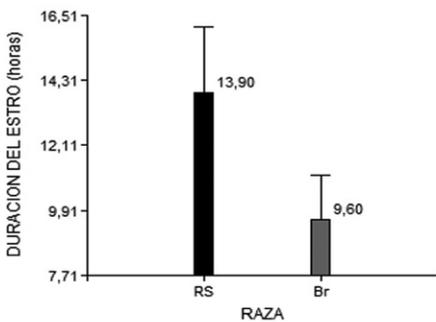


FIGURA 3. Distribución promedio de la duración del estro en las razas RS y Br

Fuente: elaboración propia.

Medidas de los componentes foliculares

Los resultados de los promedios de las medidas de longitud de los componentes foliculares para las 2 razas en estudio se presentan en la tabla 2.

En ella se puede apreciar que el diámetro de los folículos preovulatorios de las hembras de la raza RS presentó un promedio de 12,68 ± 2,06 mm en el momento previo a la ovulación, aunque se observaron variaciones en los datos individuales de las hembras entre 10,62 y 15,8 mm.

En las hembras de la raza Br el diámetro promedio de los folículos preovulatorios,

TABLA 2. Distribución de promedios de las medidas foliculares de longitud y volumen en folículos preovulatorios de las razas RS y Br

Raza	Variable	N.º	Media	D. E.	Mín.	Máx.
RS	Diámetro antro (mm)	5	12,68	2,06	10,62	15,80
RS	Volumen antro (cm ³)	5	1,14	0,57	0,63	2,07
RS	Grosor CG (µm)	5	55,12	6,46	45,86	61,45
RS	Volumen CG (mm ³)	5	27,93	6,11	20,75	36,18
RS	Grosor CTI (µm)	5	122,50	20,53	104,61	149,26
RS	Volumen CTI (mm ³)	5	64,97	19,71	38,63	87,23
Br	Diámetro antro (mm)	5	12,40	1,50	10,60	14,10
Br	Volumen antro (cm ³)	5	1,03	0,37	0,62	1,47
Br	Grosor CG (µm)	5	49,48	17,07	39,21	79,67
Br	Volumen CG (mm ³)	5	25,40	13,85	13,95	48,13
Br	Grosor CTI (µm)	5	129,61	84,85	71,91	279,37
Br	Volumen TI (mm ³)	5	59,83	25,67	45,67	105,38

Fuente: elaboración propia.

establecido por ultrasonografía, presentó variaciones en los datos individuales entre 10,6 mm y 14,1 mm, con promedio de $12,40 \pm 1,50$ mm. En las hembras estudiadas no hubo diferencias significativas en el diámetro de los folículos preovulatorios entre las razas RS y Br ($p > 0,05$). Se encontró que en los animales estudiados no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en lo relacionado con el volumen folicular, el cual fue de $1,14 \pm 0,57$ cm³ y de $1,03 \pm 0,37$ cm³ para las razas RS y Br, respectivamente.

El grosor de la capa de CG para los animales de la raza RS registró un promedio de $55,12 \pm 6,46$ µm, este parámetro mostró variaciones individuales en los animales estudiados entre 45,86 y 61,45 µm mientras que para la raza Br el promedio fue de $49,48 \pm 17,07$ µm, con valores mínimos y máximos de 39,21 y 79,67 µm, respectivamente, lo que establece que no hubo

diferencias estadísticamente significativas entre las 2 razas ($p > 0,05$).

Al calcular el volumen ocupado por la capa de CG (tabla 2), parámetro tridimensional que asocia el grosor de la capa con el tamaño del folículo preovulatorio, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las 2 razas ($p > 0,05$), con valores promedio de $25,40 \pm 13,85$ mm³ para la raza Br y $27,93 \pm 6,11$ mm³ para la raza RS.

En cuanto a lo relacionado con la capa de células de la TI, el grosor promedio de esta para la raza RS fue de $122,50 \pm 20,53$ 104,61 – 149,26 µm, entretanto para la raza Br fue de $129,61 \pm 84,85$ con variaciones desde 71,91 hasta 297,37 µm. Estadísticamente no se hallaron diferencias significativas entre las 2 razas ($p > 0,05$).

Al calcular el volumen ocupado por la capa de células de la TI (tabla 2), parámetro

TABLA 3. Distribución de promedios de desarrollo del cuerpo lúteo y concentración sérica de P₄ durante el ciclo estral de las razas RS y Br

	Romosinuano	Brahman	General
Día de observación del CL	5,38 ± 1,77	4,63 ± 2,13	5,0 ± 1,93
Día de máximo desarrollo del CL (DMDCL)	14,88 ± 3,4 ^a	10,00 ± 3,16 ^a	12,6 ± 4,05
P ₄ ng/ml DMDCL	5,37 ± 1,38 ^a	5,74 ± 0,89 ^a	5,54 ± 1,15

Día 0 = estro.

Fuente: elaboración propia.

tridimensional que asocia el grosor de la capa con el tamaño del folículo preovulatorio, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las 2 razas ($p > 0,05$), con valores promedio de $64,97 \pm 19,71 \text{ mm}^3$ para la raza RS y $59,83 \pm 25,67 \text{ mm}^3$ para la raza Br.

Desarrollo del cuerpo lúteo y concentración sérica de P₄ durante el ciclo estral

La observación diaria de los ovarios permitió identificar claramente el CL por ultrasonografía en promedio a los $5,0 \pm 1,93$ días posovulación, con variaciones entre 2,0 y 8,0 días. En las hembras de la raza RS se observó en promedio a los $5,38 \pm 1,77$ días, mientras que en las de la raza Br, a los $4,63 \pm 2,13$ (tabla 3).

El momento de máximo desarrollo estructural de los cuerpos lúteos para la totalidad de las hembras estudiadas, en promedio, ocurrió el día $12,6 \pm 4,05$ (día 0 = estro), con un diámetro promedio de $22,92 \pm 3,60 \text{ mm}$. Para las de la raza RS el diámetro máximo se observó en promedio el día $14,88 \pm 3,4$, con $23,06 \pm 3,9 \text{ mm}$, mientras que para las de la raza Br fue el día $10,00 \pm 3,16$ con un diámetro promedio de $22,75 \pm 3,16 \text{ mm}$. No se encontraron diferencias significativas para el diámetro máximo del CL ($p > 0,05$) entre las razas estudiadas, mientras que sí se observaron

diferencias para el día en que se presentó esta condición, entre las razas RS y Br ($p > 0,05$).

La concentración media de progesterona para el día en que se registró el máximo diámetro del CL fue de $5,37 \pm 1,38 \text{ ng/ml}$ para la raza RS y $5,74 \pm 0,89 \text{ ng/ml}$ para la raza Br. No se presentaron diferencias significativas entre razas ($p > 0,05$), con media general para los animales experimentales de $5,54 \pm 1,15 \text{ ng/ml}$ (tabla 3).

Al analizar el grado de relación entre el tamaño del CL y la concentración media de P₄ en este día, se observó en los animales estudiados una débil correlación inversa entre el diámetro del CL y la concentración media de P₄ en el suero sanguíneo (coeficiente de correlación de Spearman: $-0,23$, $p > 0,05$).

DISCUSIÓN

Duración del ciclo estral

La duración del ciclo estral en las hembras de la raza Br en este trabajo osciló entre 18 y 21 días, con promedio de $19,9 \pm 1,6$ días. Este parámetro se encuentra dentro de los rangos reportados como normales para la especie bovina en otras latitudes y concuerda con lo reportado por Enjoy *et al.* (2012) para hembras Br en Venezuela con promedio de $21,3 \pm 0,7$ días y variaciones entre 19-24 días.

Los valores obtenidos para la duración del ciclo estral en las hembras de la raza RS oscilaron entre 18 y 24 con promedio $21,2 \pm 1,69$ días, lo que coincide con lo revisado por Forde *et al.* (2011). Estos se distribuyeron de tal manera que el 10% de los ciclos estrales fueron de 18 días, el 20% de 20 días, el 30% de 21, el 20% de 22 días, el 10% de 23 días y el 10% de 24 días. El 80% de los ciclos observados fueron de 2 ondas de crecimiento folicular y el 20% de 3.

Duración del estro

Hubo una alta proporción de aparición de estros durante las primeras horas de la mañana (46,66%) en las 2 razas objeto de estudio, lo que coincide con lo reportado por Borges *et al.* (2004), quienes encontraron que la mayoría de los estros fueron observados en horas de la mañana (57,3%) en hembras de las razas Gir y Nelore. Esta situación facilita la tarea de detección del estro y ayuda establecer tiempos para los procedimientos en los programas de inseminación artificial a celo detectado, lo que redundará en buenos indicadores de eficiencia reproductiva de las hembras en programas de reproducción asistida. Los hallazgos podrían deberse al estrés por calor (Góngora y Hernández, 2010), pues este altera el desarrollo y la dominancia folicular durante los primeros 8 días del ciclo estral. Si este efecto se mantiene en forma crónica, la actividad de la aromatasas y las concentraciones de estradiol (E_2) en el líquido folicular disminuyen (Badanga *et al.* 1985).

Se encontró que la duración del estro en animales de razas *Bos indicus* fue de unas 10 h, más breve que en *Bos taurus* (Galina y Arthur, 1990). Así mismo, se reportó que hubo amplias variaciones en la duración, desde 1,3 hasta 20 h y en la mayoría de las vacas (53,8%) el estro empezó durante la

noche (entre las 18:00 y las 06:00 h) y en el 34,6% de ellas el estro inició y finalizó durante la noche (Pinheiro *et al.* 1998).

Intervalo estro-ovulación

En los animales de las 2 razas objeto de estudio no se presentaron estros anovulatorios a diferencia de lo observado en otras latitudes, pues se ha reportado que entre 3,0 y 8,4% de los animales de la raza Br presentan estros anovulatorios, al igual que un porcentaje entre 22 y 31% de ovulaciones sin evidencia de estro (Plasse *et al.* 1968). Se puede deducir que no hubo presentación de estros anovulatorios, pues en las hembras en las que se observó estro evidenciaron con el examen ultrasonográfico un folículo de tamaño preovulatorio, el cual desapareció con la consecuente aparición de un cuerpo lúteo en el lugar de aparente ocupación del mencionado folículo, CL que se hizo evidente en la ecografía 5 días más tarde. Es factible proponer que la escogencia de los animales utilizados en el presente estudio, además de su reconocida fertilidad, estuvieron bajo condiciones ambientales y de alimentación adecuadas y, por ello, se facilitó la expresión de los parámetros fisiológicos estimados.

El tiempo transcurrido desde la observación de los primeros signos de quietud al intento de monta por parte del macho hasta la ovulación fue de $21,20 \pm 5,07$ h para los animales de la raza Br, y de $24,40 \pm 6,43$ h para los de la raza RS, datos que no coinciden con lo reportado por Walker *et al.* (1996) en hembras Holstein ($27,6 \pm 5,4$ h) y por Pinheiro *et al.* (1998) en hembras Nelore ($26,6 \pm 0,44$ h), quienes además no encontraron diferencias en el tiempo transcurrido desde la detección del estro hasta la ovulación entre estros espontáneos o inducidos, pero sí coinciden con

lo reportado en hembras Gir ($23,9 \pm 5,1$ h) y Nelore ($21,5 \pm 6,2$ h) (Borges *et al.* 2004).

La caracterización de este intervalo es esencial para la estimación del mejor tiempo para la inseminación en el ganado bovino (Pinheiro *et al.* 1998). En novillas Br, algunos reportes más recientes muestran intervalos un poco más largos, alrededor de 25-29 h (Cavaliere *et al.* 1997; Pinheiro *et al.* 1998), discrepancia que se ha sido atribuida al grado de precisión de los métodos utilizados para la detección del inicio y finalización del estro, como en el caso de la uso de dispositivos electrónicos instalados en los animales. La precisión en la detección puede también verse afectada por factores como el estrés crónico (Walker *et al.* 2008).

Si bien la evaluación morfológica de los folículos es indudablemente popular, su precisión como predictor de la calidad del oocito es todavía incierta (Perry *et al.* 2005), el tamaño de los folículos antrales podría ser un valioso marcador para los procesos de fertilización *in vitro*, en el presente trabajo durante la evaluación ultrasonográfica no se encontró diferencia en el diámetro del folículo preovulatorio entre las razas RS y Br, $12,68 \pm 1,85$ vs. $12,40 \pm 1,35$ mm, respectivamente ($>0,05$). Esto podría explicarse por el hecho de tratarse de folículos de más de 10 mm de diámetro, puesto que se encontró que el 80% de los animales con folículos de más de 8,5 mm de diámetro y el 90% de los de más de 10 mm ovulan en respuesta a una dosis de 25 mg de la LH (Gimenes *et al.* 2008).

Los valores encontrados para la raza Br difieren de los hallados por otros autores en latitudes similares. Enjoy *et al.* (2012), por ejemplo, encontraron en vacas Br que el diámetro de los folículos preovulatorios fue de $12,7 \pm 0,4$ mm, parámetro que

estadísticamente no dista de lo encontrado en el presente trabajo y difiere de lo reportado para ganado Nelore (11 mm), otra de las razas *Bos indicus* de importancia en el trópico cálido (Figueiredo *et al.* 1997). No obstante estas diferencias, se cree que el tamaño del folículo preovulatorio aparentemente no tiene efecto sobre la fertilidad cuando la ovulación ocurre espontáneamente, ya que este ovula en un amplio rango de tamaños cuando está fisiológicamente maduro (Perry *et al.* 2005), lo que mostraría que el diámetro de los folículos no necesariamente indica si el folículo está saludable y en crecimiento o si está sufriendo atresia (Han *et al.* 2006).

Desarrollo de componentes foliculares

La tasa de crecimiento de los folículos ováricos es relativamente grande y el aumento en el tamaño de estos es el producto de la proliferación de las células que lo componen y, principalmente, del aumento en el contenido de líquido folicular. Se ha observado que la tasa de crecimiento folicular varía desde $0,78 \pm 0,1$ mm/d (Enjoy *et al.* 2012), lo que obliga a pensar que la expresión de la respuesta esteroideogénica tanto del folículo ovárico, como del CL estarían dependiendo del desarrollo de los mismos y de su tasa metabólica.

El incremento en el número de CG del folículo preovulatorio probablemente podría resultar en un mayor número de células luteales grandes, con un subsecuente incremento en el tamaño del CL e incremento en la secreción de P_4 (Sartori *et al.* 2002). En el presente trabajo se pudo encontrar que no se registraron diferencias estadísticamente significativas en el grosor de la capa de CG entre los folículos preovulatorios de los animales de la raza RS ($55,12 \pm 15,51$ μ m) y los de

la raza Br ($49,48 \pm 17,07 \mu\text{m}$), ni en el volumen ocupado por estas ($27,93 \pm 6,11$ vs. $25,40 \pm 13,85 \text{ mm}^3$, respectivamente), lo que haría suponer que el subsecuente CL debería haber alcanzado un volumen similar si se hubieran permitido las ovulaciones; sin embargo, la información previa obtenida de los folículos y CL de los ciclos anteriores permite suponer que no se hubieran presentado diferencias significativas en el tamaño. Aunque se ha observado que la inducción de la ovulación en novillas durante su primera onda de crecimiento folicular se refleja en la formación de cuerpos lúteos de menor tamaño y con menor capacidad para sintetizar esteroides comparados con aquellos cuerpos lúteos provenientes de una ovulación espontánea, al parecer por una menor expresión de receptores para LH (Gregson *et al.* 2016), la diferencia en tamaño podría ser compensada por la tasa de síntesis de esteroides, estimulada probablemente por la acción de otras moléculas no analizadas en el presente estudio, pues se ha reportado, por ejemplo, que la LH junto con el factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I) estimulan la esteroidogénesis en las células de la TI de los bovinos (Abreu *et al.* 2018).

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio, se podría establecer que no existen diferencias en los eventos fisiológicos estudiados entre las razas RS y Br; es importante seguir indagando en detalle en los procesos fisiológicos no solo durante el interestro, sino también durante otras etapas de la vida productiva de los animales, como durante el posparto y la gestación temprana, sin olvidar que las

características reproductivas son de carácter multifactorial y que para efectos del presente trabajo solo se han abordado algunos elementos relacionados con la fisiología ovárica como aporte al conocimiento de la especie bovina que, sin duda, pueden servir de base para futuros análisis en los bovinos residentes en el trópico.

REFERENCIAS

- Abreu F, Da Silva MC, Cruppe L, Mussard M, Bridges G, Harstine B, Day M. 2018. Role of progesterone concentrations during early follicular development in beef cattle: I. Characteristics of LH secretion and oocyte quality. *Ani Reprod Sci.* 196:59-68.
- Badinga L, Collier RJ, Thatcher W, Wilcox C. 1985. Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environment. *J Dairy Sci.* 68(1):78-85.
- Borges A, Torres C, Rocha Júnior V, Ruas J, Gioso M, Fonseca J, Maffili V. 2004. Follicular dynamic and ovulation time of non-lactating Gir and Nelore cows during two seasons of the year. *Arq Bras Med Vet Zoo.* 56(3):346-354.
- Cavaliere J, Rubio I, Kinder J, Entwistle K, Fitzpatrick L. 1997. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. *Theriogenology.* 47(4):801-814.
- Di Rienzo J, Casanoves F, Balzarini M, González L, Tablada M, Robledo CI. 2008. versión 2008. Córdoba (Argentina): Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba.
- Edson MA, Nagaraja AK, Matzuk MM. 2009. The mammalian ovary from genesis to revelation. *Endocr Rev.* 30(6):624-712.
- Enjoy D, Endel D, Cabrera P, Vivas I, Díaz T. 2012. Dinámica folicular ovárica durante el ciclo estral en vacas brahman. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias.* 53(1):39-47.
- Figueiredo R, Barros C, Pinheiro O, Soler J. 1997. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Theriogenology.* 47(8):1489-1505.

- Forde N, Beltman M, Lonergan P, Diskin M, Roche J, Crowe M. 2011. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Anim Reprod Sci.* 124(3):163-169.
- Galina C, Arthur G. 1990. Review on cattle reproduction in the tropics. Part 4. Oestrous cycles. Documento presentado en: Animal Breeding Abstracts.
- Gilbert I. 2011. Étude de l'expression génique dans les cellules de la granulosa bovine durant la période pré-ovulatoire.
- Gimenes LU, Sá Filho MFD, Carvalho NATD, Torres-Júnior J, Souza AD, Madureira E, Carvalho J. 2008. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology.* 69(7):852-858.
- Góngora A, Hernández A. 2010. La reproducción de la vaca se afecta por las altas temperaturas ambientales. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica.* 13(2):141-151.
- Green M, Hunter M, Mann G. 2005. Relationships between maternal hormone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 88(3-4):179-189.
- Gregson E, Webb R, Sheldrick EL, Campbell BK, Mann GE, Liddell S, Sinclair KD. 2016. Molecular determinants of a competent bovine corpus luteum: first-vs final-wave dominant follicles. *Reproduction.* 151(6):563-575.
- Han ZB, Lan GC, Wu YG, Han D, Feng WG, Wang JZ, Tan JH. 2006. Interactive effects of granulosa cell apoptosis, follicle size, cumulus-oocyte complex morphology, and cumulus expansion on the developmental competence of goat oocytes: a study using the well-in-drop culture system. *Reproduction.* 132(5):749.
- Khan A, Khan MZ, Umer S, Khan IM, Xu H, Zhu H, Wang Y. 2020. Cellular and Molecular Adaptation of Bovine Granulosa Cells and Oocytes under Heat Stress. *Animals.* 10(1):110.
- Mann G. 2009. Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. *Anim Reprod Science.* 115(1):296-299.
- Meidan R, Girsh E, Mamluk R, Levy N, Farberov S. 2017. Luteolysis in ruminants: past concepts, new insights, and persisting challenges. En: *The Life Cycle of the Corpus Luteum.* Springer. Pp. 159-182.
- Oosthuizen N, Cooke RF, Schubach KM, Fontes PL, Brandão AP, Oliveira Filho RV, Pohler KG. 2020. Effects of estrous expression and intensity of behavioral estrous symptoms on variables associated with fertility in beef cows treated for fixed-time artificial insemination. *Anim Reprod Sci.* 214:106308.
- Peiró JR, Nogueira GM, Nogueira GP, Perri SH, Cardoso D. 2009. Ovariectomy by left flank approach in prepubertal Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Can J Vet Res.* 73(3):237.
- Perry GA, Smith MF, Lucy MC, Green JA, Parks TE, MacNeil MD, Geary TW. 2005. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *P Natl Acad Sci USA.* 102(14):5268-5273.
- Pierson R, Ginther O. 1988. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology.* 29(1):21-37.
- Pinheiro O, Barros C, Figueiredo R, Do Valle E, Encarnação R, Padovani C. 1998. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F_{2α} or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology.* 49(3):667-681.
- Plasse D, Warnick A, Reese R, Koger M. 1968. Reproductive Behavior of *Bos Indicus* Females in a Subtropical Environment. II. Gestation Length in Brahman Cattle 1. *J Anim Sci.* 27(1):101-104.
- Robinson R, Hammond A, Hunter M, Mann G. 2005. The induction of a delayed post-ovulatory progesterone rise in dairy cows: a novel model. *Domest Anim Endocrin.* 28(3):285-295.
- Rodgers RJ, Irving-Rodgers HF. 2010. Formation of the ovarian follicular antrum and follicular fluid. *Biol Reprod.* 82(6):1021-1029.
- Rodrigues A, Cooke R, Cipriano R, Silva L, Cerri R, Cruppe L, Vasconcelos J. 2018. Impacts of estrus expression and intensity during a timed-AI protocol on variables associated with fertility and pregnancy success in *Bos indicus*-influenced beef cows. *J Anim Sci.* 96(1):236-249.
- Sartori R, Rosa G, Wiltbank M. 2002. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and

- lactating and dry cows in winter. *J Dairy Sci.* 85(11):2813-2822.
- Senger. 2012. Pathways to pregnancy and parturition. Redmond: Current Conceptions, Inc.
- Shrestha K, Rodler D, Sinowatz F, Meidan R. 2019. Corpus Luteum Formation. En: *The Ovary*. Elsevier. Pp. 255-267.
- Townson D, Tsang P, Butler W, Frajblat M, Griel L, Johnson C, Pate J. 2002. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *J Anim Sci.* 80(4):1053-1058.
- Walker S, Smith R, Jones D, Routly J, Dobson H. 2008. Chronic stress, hormone profiles and estrus intensity in dairy cattle. *Horm Beh.* 53(3):493-501.
- Walker W, Nebel R, McGilliard M. 1996. Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 79(9):1555-1561.
- Yung M, VandeHaar M, Fogwell R, Sharma B. 1996. Effect of energy balance and somatotropin on insulin-like growth factor I in serum and on weight and progesterone of corpus luteum in heifers. *J Anim Sci.* 74(9):2239-2244.

Forma de citación del artículo

Vejarano A, Hernández A. 2021. Grado de desarrollo del folículo preovulatorio y su relación con el tamaño del cuerpo lúteo y la producción de progesterona en las razas Romosinuano (RS) y Brahman (Br). *Rev Med Vet Zoot.* 68(1): 52-65. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v68n1.97255>