



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Tamaño del folículo ovulatorio, volumen del cuerpo lúteo y niveles séricos de progesterona, durante el ciclo estral y gestación temprana en vacas Holstein en Bogotá

Marbel Yulieth Monroy González

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Posgrado en Salud Animal
Bogotá, Colombia
2017

Tamaño del folículo ovulatorio, volumen del cuerpo lúteo y niveles séricos de progesterona, durante el ciclo estral y gestación temprana en vacas Holstein en Bogotá

Marbel Yulieth Monroy González

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Salud Animal

Director:

(DMVZ, M.Sc, Ph.D.) Aureliano Hernández Vásquez

Codirectora:

(MV, M.Sc, DVSc) Claudia Jiménez Escobar

Grupos de investigación:

Biología y adaptación de los animales al Trópico

Reproducción animal y salud de hato

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

2017

A Dios por ser mi guía y brindarme diferentes oportunidades en el transcurso de mi vida para alcanzar las metas propuestas.

A mis padres Luz Myriam González Cortés y Carlos Efraín Monroy por apoyarme en cada decisión, oportunidad y situación difícil; ellos son mi ejemplo a seguir y mis amigos incondicionales.

A Michael Rodríguez por ser mi compañero incondicional, por apoyarme siempre y motivarme a ser mejor persona y profesional, a mi hijo mi gran alegría, bendición y más hermosa motivación para alcanzar mis metas y ser mejor cada día.

A mi familia quienes de una u otra manera me han tendido su mano para alcanzar esta meta.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Colombia, y la Facultad de Postgrados de Medicina Veterinaria y de Zootecnia por la financiación parcial de esta investigación.

Al Dr. Aureliano Hernández Vásquez por aceptarme como estudiante de postgrado bajo su dirección, sin su ayuda no hubiese sido posible. Por brindarme su confianza, sus valiosas enseñanzas, por guiar con paciencia y sabiduría no solamente el desarrollo de esta investigación sino también mi formación como persona, profesional e investigadora.

A la Dra. Claudia Jiménez Escobar por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección, por acogerme en su grupo de estudiantes de postgrado, por brindarme su confianza, sus enseñanzas, por sus aportes valiosos e importantes para el desarrollo de esta investigación y mi formación como profesional e investigadora.

Al Dr. Jorge Zambrano por sus valiosos aportes, enseñanzas, acompañamiento durante la toma de datos en el Centro Agropecuario Marengo y en el desarrollo de esta investigación, sin duda alguna han sido de gran importancia para mi crecimiento personal y profesional.

Al Dr. Jessé González por su amistad incondicional, por su acompañamiento durante todo este proceso y su colaboración en la toma de datos de campo. Al Dr. Humberto Guáqueta por su colaboración y acompañamiento durante la toma de datos en campo.

Al Dr. Henry Grajales, la Dra. Paola Alvarado y el Dr. Harvey Lozano por su colaboración en el procesamiento y lectura de las muestras llevado a cabo en el Laboratorio de Ovinos del Centro Agropecuario Marengo y Laboratorio de Hormonas de Posgrados de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia.

A los trabajadores y el hato del Centro Agropecuario Marengo por su continua colaboración durante la toma de muestras en campo.

A mis profesores de estadística la Dra. Nhora María Martínez y el Dr. Manrique por sus aportes y enseñanzas que fueron indispensables para la elaboración del diseño estadístico del trabajo de investigación.

Resumen

Con el fin de contribuir al conocimiento de la fisiología reproductiva en vacas lactantes, se realizó seguimiento de la dinámica folicular, del volumen del cuerpo lúteo (CL) y de los niveles séricos de progesterona (P4), durante el ciclo estral y la gestación temprana. Se emplearon 19 vacas Holstein de 2 a 6 partos en Bogotá, y a partir del día 40 posparto se evaluaron dos fases consecutivas, la primera fase correspondió al ciclo estral y la segunda fase correspondió a la gestación temprana o repetición de celo. Se detectó el celo al 100% de las hembras y se realizó ultrasonografía para evaluar el diámetro en mm del folículo ovulatorio (FO) hasta confirmar su ovulación, y posteriormente el diámetro del CL los días 6, 9, 12 y 15, de acuerdo con esta medida se calculó su volumen con la fórmula $\frac{4}{3} \times \pi \times r^3$, en la que el valor de π (3,1416) es una constante y r correspondió al radio (diámetro dividido en 2) del tamaño del CL. Igualmente en los días 6, 9, 12 y 15 se tomaron muestras de sangre para determinar los niveles séricos de P4. Al iniciar la segunda fase las vacas fueron inseminadas artificialmente (IA) y se diagnosticó la gestación en el día 30 post IA. Se realizó estadística descriptiva, regresión lineal y regresión logística para evaluar la relación entre el diámetro del FO, volumen luteal y niveles séricos de P4 con la gestación temprana. El 47.36% de las vacas se diagnosticaron como gestantes, y el 52.63% no gestantes. El promedio del diámetro del FO (17.85 ± 2.39 mm) fue significativamente menor ($p < 0.05$) en los animales gestantes comparado con las no gestantes. Las vacas que presentaron diámetros de FO en promedio de 17.85 ± 2.39 mm tuvieron mayor posibilidad de quedar gestantes (OR=0.624, IC 95% (0.4-0.9) ($p < 0.05$)). En los dos grupos no hubo diferencias significativas en los volúmenes de los CL ($p = 0.10$) y los niveles séricos de P4 ($p = 0.39$) los días 6, 9, 12 y 15, es decir que independientemente del tamaño y del estado reproductivo los CL de estos animales produjeron similares niveles séricos de P4. Los promedios de los volúmenes de los CL y la P4 fueron significativamente diferentes ($p = 0.000$) a través del tiempo; y esta relación fue lineal ($p = 0.000$) y cuadrática ($p = 0.000$). Este estudio muestra que no hubo diferencias significativas en los niveles séricos de P4 y los volúmenes de los CL los días 6, 9, 12 y 15 cuando se compararon los valores obtenidos en vacas gestantes con los de las no gestantes. Las vacas que presentaron diámetro

promedio de FO de 17.85 ± 2.39 mm tuvieron mayor posibilidad de quedar gestantes. Los valores reportados en esta investigación pueden ser el punto de partida para establecer valores de referencia de utilidad clínica y de futuros trabajos de investigación.

Palabras clave: ciclo estral, gestación, ovulación, postparto.

Abstract

In 20 Holstein cows living in Bogotá, Colombia, two ovarian cycles were followed: a) in the first one, animals were not inseminated; b) in the second one, artificial insemination (AI) was brought about. In both phases, follicular dynamics, corpus luteum (CL) volume and serum progesterone (P4) levels were monitored. The animals had a previous record of having 2 to 6 parturitions. This study took place after the 40th day postpartum. In both studied periods, estrus was detected, and ultrasonography performed to evaluate the ovulatory follicle (OF) diameter until ovulation was confirmed, and then, CL volume and P4 serum levels established on days 6, 9, 12 and 15 of each ovarian cycle. Pregnancy was diagnosed at the 30th day post AI. Descriptive statistics, linear regression and logistic regression were performed to evaluate the relationship between the OF diameter, luteal volume and serum P4 levels with pregnancy occurrence; only 47.36% of the cows were pregnant. Pregnant females had significantly smaller ($p < 0.05$) OF (17.85 ± 2.39 mm) than non-pregnant ones (21.10 ± 2.86 mm). Cows with smaller OF diameters appeared to be more likely to become pregnant (OR=0.624, IC 95% (0.4-0.9) ($p < 0.05$)). In animals of both studied groups, there were not significant differences in the corpus luteum volume ($p = 0.10$) and P4 serum levels ($p = 0.39$) independently of the size of the CL and the reproductive status of the cows. The CL produced similar P4 levels. There were not significant differences in serum P4 levels and the CL volume on days 6, 9, 12 and 15 post-AI, when comparing pregnant with non-pregnant cows. Animals with OF diameters values of 17.85 ± 2.39 mm were more likely to become pregnant. Data reported herein may be the starting point for establishing reference useful values in clinical practice and future research works.

Keywords: Postpartum, estrous cycle, pregnancy, ovulation.

Contenido

	Pág.
Resumen	IX
Lista de figuras	XIII
Lista de tablas	XIV
Lista de Símbolos y abreviaturas	XV
Introducción	1
1. Revisión de literatura: Actividad ovárica posparto y su relación con la fertilidad en vacas Holstein	3
1.1 Ciclo estral.....	5
1.1.1 Folículo dominante.....	7
1.1.2 Cuerpo Lúteo	10
1.2 Gestación	11
1.2.1 Fertilización.....	11
1.2.2 Establecimiento de la gestación	12
1.2.3 Progesterona	15
1.3 Mortalidad Embrionaria.....	17
1.3.1 Causas de Mortalidad Embrionaria	18
1.4 Folículo preovulatorio, cuerpo lúteo y progesterona en relación con el éxito de la gestación en vacas lecheras.....	20
Referencias	23
2. Relación del diámetro del folículo preovulatorio, volumen del cuerpo lúteo y niveles séricos de progesterona, sobre el porcentaje de gestación en vacas Holstein	37
2.1 Introducción	39
2.2 Materiales y Métodos.....	41
2.2.1 Localización	41
2.2.2 Criterios de Inclusión: Animales	42
2.2.3 Detección de estros	42
2.2.4 Palpación rectal y ultrasonografía	43
2.2.5 Muestras de sangre y análisis hormonal:	45
2.2.6 Análisis estadístico.....	46
2.3 Resultados.....	46
2.3.1 Seguimiento de la primera fase: ciclo estral	47
2.3.2 Seguimiento de la segunda fase: Vacas gestantes y no gestantes	50

2.3.3	Asociación entre los niveles séricos de P4, volumen del CL, y el diámetro del folículo preovulatorio	54
2.3.4	Asociación del diámetro del folículo preovulatorio, volumen del CL, niveles séricos de P4, con la gestación temprana.....	54
2.4	Discusión.....	57
Referencias		67
3. Conclusiones y recomendaciones		73
3.1	Conclusiones.....	73
3.2	Recomendaciones.....	74

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1: Inicio de la actividad cíclica ovárica posparto en vacas tipo leche	04
Figura 1-2: Ciclo estral en vacas de 2 y 3 ondas de crecimiento folicular.....	06
Figura 1-3: Representación esquemática del crecimiento del folículo dominante y del oocito por los diferentes estados morfológicos que pasan durante el ciclo estral.....	09
Figura 1-4: Reconocimiento materno de la gestación en la vaca.....	13
Figura 2-1: Ubicación geográfica del Centro Agropecuario Marengo.....	41
Figura 2-2: Signos de presentación de celo en vacas Holstein.....	43
Figura 2-3: Esquema del seguimiento folicular, luteal y toma de muestras sanguíneas, durante la primera y segunda fase en vacas Holstein.....	45
Figura 2-4: Distribución de la duración del ciclo estral en vacas Holstein posparto.....	48
Figura 2-5: Concentración sérica de P4 y volumen del CL durante los días 6, 9, 12, y 15 del ciclo estral en vacas Holstein de 2 y 3 ondas de crecimiento folicular.....	50
Figura 2-6: Niveles séricos de progesterona en vacas gestantes y no gestantes.....	55
Figura 2-7: Volumen del CL (mm ³) en vacas gestantes y no gestantes.....	56

Lista de tablas

Pág.

Tabla 2-1: Comparación de los valores (promedio \pm desviación estándar) de diámetro del folículo ovulatorio (mm), volumen del CL (mm^3), concentración sérica de P4 (ng/ml), tiempo transcurrido desde el inicio del celo hasta la ovulación, en animales de 2 y 3 ondas de crecimiento folicular en el ciclo estral..... 49

Tabla 2-2: Comparación de los valores (promedio \pm desviación estándar) de diámetro del folículo ovulatorio (mm), volumen del CL (mm^3), concentración sérica de P4 (ng/ml), tiempo transcurrido desde el inicio del celo hasta la ovulación, en animales gestantes y no gestantes.....52

Tabla 2-3: Comparación del promedio del diámetro del folículo ovulatorio y duración de la primera y segunda fase en vacas de retorno normal y tardío al celo.....53

Tabla 2-4: Asociación entre el diámetro del ovulatorio y la gestación al día 30 post-IA.....57

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura Término

P4	Progesterona
CL	Cuerpo Lúteo
FO	Folículo ovulatorio
CE	Ciclo estral
FSH	Hormona Foliculoestimulante
LH	Hormona Luteinizante
GNRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
E2	Estradiol
PGF2 α	Prostaglandina
FD	Folículo dominante
ME	Mortalidad embrionaria
IA	Inseminación artificial
IATF	Inseminación artificial a tiempo fijo
IFN-t	Interferón tao
OR	Odds ratio

Introducción

Colombia se ha posicionado como el cuarto productor de leche en América Latina y la ganadería especializada en leche ha tomado gran importancia en los últimos años, debido a que genera 13.000 empleos directos en promedio anual, y 400 mil pequeños ganaderos dependen de la actividad lechera como su fuente principal de ingresos (Jaramillo y Areiza, 2012). Con el fin de mejorar la producción en el sector lechero se ha aumentado el número de estudios para conocer las condiciones fisiológicas y patológicas de la especie bovina.

De acuerdo con la Federación Colombiana de Ganaderos (Fedegán), el país tiene aproximadamente 23.5 millones de cabezas de ganado de las cuales 1.5 millones corresponde a lechería especializada y distribuida principalmente en los departamentos de Cundinamarca con una producción de 2.7 millones de Lts, seguido de Antioquia con 2.4 millones y Boyacá con 1.4 millones de Lts. La raza lechera predominante es la Holstein, con cerca de 1'500.000 cabezas aproximadamente con una producción promedio diaria entre 20 y 22 Lts (Asoholstein), convirtiéndose en la raza líder de producción de leche.

No obstante, a pesar de la mayor productividad en cuanto a cantidad de leche de esta raza con relación a otras, algunos autores (Dobson et al., 2007; Wiltbank et al., 2006; Wolfenson et al., 2004) indican que la eficiencia reproductiva declina cuando aumenta la producción de leche; sin embargo aún no está totalmente dilucidado. La disminución en la eficiencia reproductiva en vacas lactantes, parece ser el resultado del gasto energético asociado con la iniciación y mantenimiento de la lactancia (Wiltbank et al., 2011).

Wiltbank et al., (2006), indican que las vacas de alta producción presentan parámetros reproductivos más bajos comparado con las novillas. A modo de ejemplo las novillas presentan tasa de concepción de 60 a 75% y las vacas lactantes de 25 a 40%; gran parte de ésta baja tasa de concepción se debe a la mortalidad embrionaria (ME), definida por el Comité Internacional de Nomenclatura Reproductiva (1992) como la pérdida del embrión

ocurrida entre la fertilización y el periodo final de la diferenciación de estructuras fetales, aproximadamente en el día 42 de la gestación, cuando termina el periodo embrionario.

La ME es considerada una de las causas que influye en la prolongación del intervalo entre partos. Se estima que el porcentaje de ME temprana está en promedio en 33.8% (Grimard et al., 2006), con un rango entre 20 y 45% (Walsh et al., 2011) ; las pérdidas embrionarias tardías y fetales tempranas se presentan con un porcentaje promedio del 22.2% (Abdalla et al., 2017) y un rango entre el 8 y el 22% (Abdalla et al., 2017; Grimard et al., 2006; Santos et al., 2009) y el porcentaje de aborto tardío se presenta entre el 1 y 4 % (Walsh et al., 2011).

Es necesario realizar investigaciones que evalúen el comportamiento fisiológico postparto, el ciclo estral y los diferentes factores que intervienen en el establecimiento y mantenimiento de la gestación en vacas lactantes, con el fin de contribuir al conocimiento de la fisiología reproductiva de estos animales en el trópico alto.

Estudios en el ganado lechero indican que existen algunas condiciones de las estructuras ováricas que influyen sobre el establecimiento y mantenimiento de la gestación como por ejemplo el tamaño de el FO, el cuerpo lúteo y los niveles séricos de progesterona (Santos et al., 2009; Binelli et al., 2009; Busch et al., 2008).

En Colombia se han realizado pocos estudios al respecto bajo condiciones fisiológicas normales, en la mayoría de investigaciones han utilizado protocolos de IATF como el estudio de Duica et al. (2010) quienes encontraron que en novillas Holstein sincronizadas para transferencia de embriones mostraron una relación positiva del efecto de la concentración plasmática de progesterona evaluada al día 17 y el porcentaje de preñez determinado el día 42 o 52 post ovulación; de tal manera que al aumentar los niveles de progesterona se aumentó la probabilidad de preñez.

Sin embargo, algunos estudios indican que la probabilidad de concepción guarda relación con el tamaño del FO (Lopes et al., 2007). Para probar la hipótesis que el diámetro del FO, el volumen del CL y los niveles séricos de P4 están asociados con el éxito de la gestación, se realiza esta investigación.

1.Revisión de literatura: Actividad ovárica posparto y su relación con la fertilidad en vacas Holstein

Después del parto la hembra bovina debe restablecer la capacidad reproductiva con prontitud con el fin de obtener una gestación en el menor tiempo posible, y de esta manera generar un impacto económico positivo en las empresas ganaderas; por esta razón es necesario identificar las condiciones fisiológicas del periodo posparto y la reactivación ovárica o inicio de la presentación de ciclos estrales normales consecutivos.

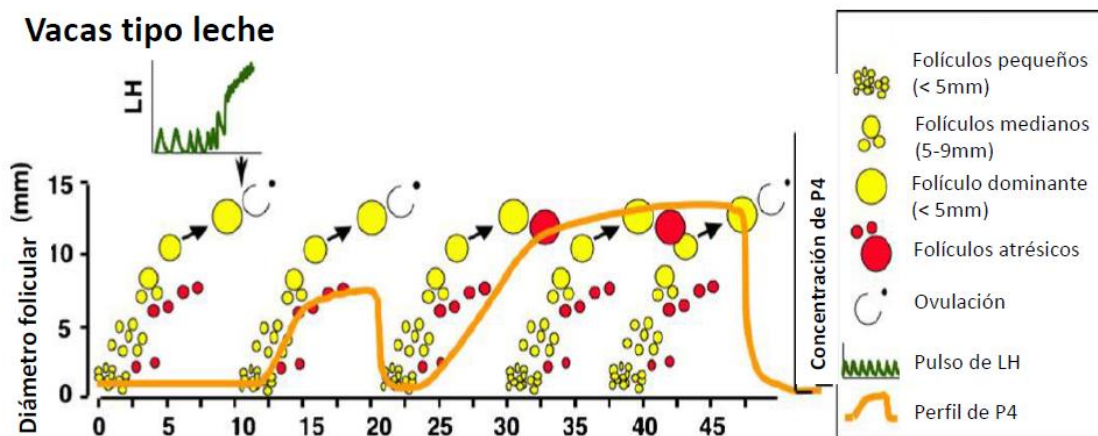
El periodo posparto en la vaca es definido como el tiempo comprendido entre el parto y la completa involución uterina que finaliza aproximadamente entre la sexta y la octava semana. Los eventos que intervienen en la involución uterina incluyen grandes cambios macroscópicos, microscópicos y moleculares, como: contracción física, glandular y atrofia muscular, posteriormente, necrosis, descamación y regeneración del endometrio (Chapwanya et al., 2009). La mayor reducción del tamaño del útero en las vacas con un puerperio normal ocurre en los días 10 a 14 después del parto (Chapwanya et al., 2009).

Además de la involución uterina, otra condición a evaluar en el posparto es el retorno a la actividad cíclica ovárica, en ésta el principal factor influyente es la regulación endocrina, especialmente los cambios en los niveles séricos de progesterona (P4); durante la gestación las altas concentraciones de P4 suprimen la actividad del eje hipotálamo-hipofisiario lo cual inhibe la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y genera un estímulo insuficiente para la secreción de la hormona Luteinizante (LH) y Foliculoestimulante (FSH), por lo tanto durante la gestación puede presentarse crecimiento folicular pero no ovulación (Nett et al., 1988).

Antes y durante el parto inicia la disminución de los niveles séricos de P4 hasta niveles basales, por consiguiente durante los primeros 15 días aumenta gradualmente el número

de receptores de GnRH en la adenohipófisis, y retoma la capacidad de secreción de FSH y LH (Nett et al., 1988). El primer incremento de los niveles de FSH (dentro de los 3 a 5 días posparto) estimula la primera onda de crecimiento folicular, lo que resulta en un folículo dominante (FD) en los 7 a 10 días posparto. El destino del primer FD depende de su capacidad de secretar suficientes niveles de estradiol (E2) para inducir una onda preovulatoria de LH, indispensable para su propia ovulación (Crowe et al., 1993; Crowe et al., 1998; Forde et al., 2011; Savio et al., 1990). Los niveles de LH aumentan significativamente hasta normalizarse al día 30 después del parto aproximadamente (Nett et al., 1988). Aun así la reanudación de la ciclicidad ovárica puede variar; se reporta en vacas Holstein que la primera ovulación posparto se observa en las semanas 3 (5.7%), 4 (25.7%), 5 (40%), 6 (20%) y 7 (8.6%) (Senosy et al., 2009). La mayoría de las vacas lecheras reanudan la actividad ovárica y ovulación dentro de los 15-45 días posparto y posteriormente muestran ciclos estrales regulares a intervalos de 18 a 24 días (Forde et al., 2011).

Figura 1-1: Inicio de la actividad cíclica ovárica postparto en vacas de leche.



Fuente: Editado de (Forde et al., 2011)

Otro aspecto que influye en el inicio de la actividad ovárica es el balance energético negativo, que es la diferencia entre la cantidad de energía consumida y el mayor

incremento en los requerimientos nutricionales posparto por aumento en la producción de leche. El balance energético negativo se extiende hasta las siguientes 10-12 semanas; durante las primeras semanas se presenta baja frecuencia en los pulsos de LH, también bajos niveles de glucosa en sangre, insulina y factor insulínico del crecimiento 1 IGF-1, que limitan la producción de E2 en los FD (Beam y Butler, 1997; Butler, 2003), y como resultado algunas vacas pueden no ovular el primer FD y tardar más tiempo en reanudar la ciclicidad ovárica (Beam y Butler, 1997).

En Colombia se reporta en la raza Holstein, que el promedio de días antes de la primera ovulación es de 21.55 ± 1.1 para las hembras que presentan reactivación ovárica temprana y 48.7 ± 8.8 días para las vacas con reactivación ovárica tardía. El intervalo entre el parto y la primera ovulación puede variar según las condiciones en las que se encuentran las vacas, por ejemplo, existen factores de riesgo que favorecen la ovulación temprana como la condición corporal ≥ 2.5 ; las vacas que presentan una condición corporal < 2.5 al día 32 postparto, tienen 3.3 veces más probabilidades de presentar ovulación tardía (Guáqueta et al., 2014).

Una vez ocurrida la primera ovulación, en algunas hembras posiblemente se presenta un periodo de estabilización de la función ovárica, en el cual se pueden encontrar ciclos estrales cortos, largos, celos de menor o mayor duración, entre otros; posteriormente se esperaría observar la continuidad de ciclos estrales normales y consecutivos (Arana et al., 2006).

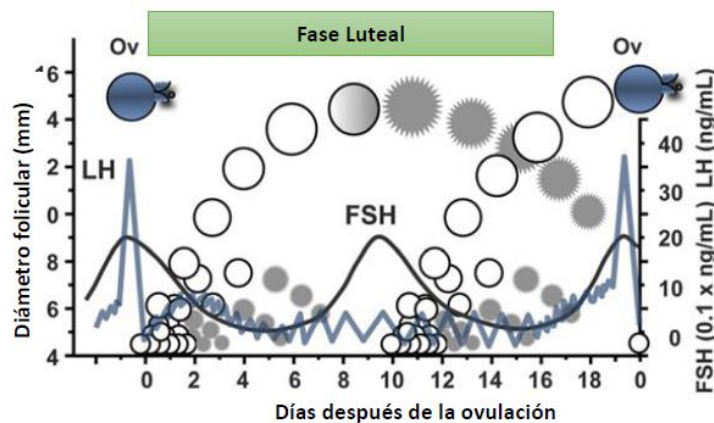
1.1 Ciclo estral

El ciclo estral (CE) se ha definido como el lapso que transcurre entre la presentación de un estro y la del siguiente. El CE se ha dividido en 4 fases: Estro (o periodo de receptividad de la hembra al macho), metaestro (o finalización del estro y desarrollo temprano del cuerpo lúteo), diestro (o periodo de funcionalidad del CL), proestro (o regresión del CL e inicio del estro), (Rathbone et al., 2001). Así mismo, en una fase de mayor influencia de los estrógenos llamada estrogénica (proestro y estro) y otra progestacional cuando hay predominio de la hormona P4 que comienza con el metaestro y termina con el diestro.

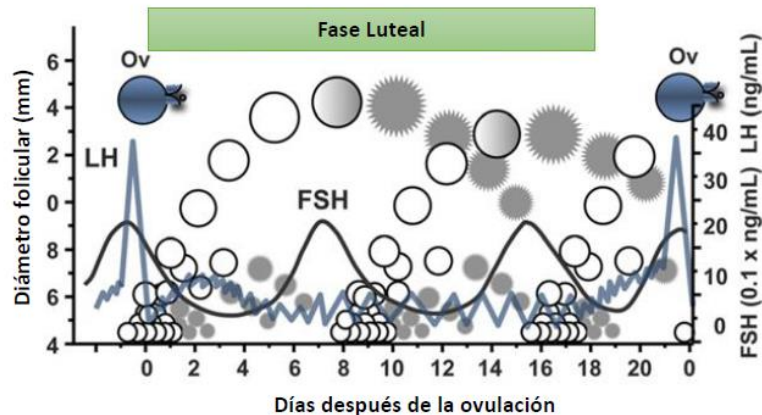
En especies mono-ovulatorias como la vaca, el crecimiento de folículos ováricos se presenta en ondas de desarrollo. Durante el CE bovino se ha establecido que existe un patrón de dos o tres ondas de crecimiento folicular y con menos frecuencia hasta cuatro ondas. El CE de dos ondas tiene un promedio de duración de 21 días, la primera onda de crecimiento comienza en los días 1-4, la segunda onda inicia entre los días 9 y 10 (Ginther et al., 1997). El CE de tres ondas tiene un promedio de duración de 23 días, la segunda onda comienza en los días 8-9 y la tercera onda entre los días 15 y 16. Pero únicamente la última onda resulta en ovulación (Gimenes et al., 2008; Ginther et al., 1997; Aerts y Bols, 2010).

Figura 1-2: Ciclo estral en vacas de 2 y de 3 ondas de crecimiento folicular.

Intervalo interovulatorio en vacas de 2 ondas de crecimiento folicular



Intervalo interovulatorio en vacas de 3 ondas de crecimiento folicular



Fuente: Editado de Adams et al., 2008

Cada onda está subdividida en: reclutamiento, selección, desviación y dominancia. En el reclutamiento, una cohorte de folículos antrales es estimulado por un aumento transitorio de la hormona FSH. En la vaca, comienza a reclutarse un grupo de 5 a 10 folículos o incluso hasta 24 folículos; posteriormente estos folículos se someten a un proceso de selección por lo que en especies monovulatorias normalmente un único folículo se convierte en dominante y hay regresión de los folículos restantes (Ginther et al., 1997; Aerts y Bols, 2010).

No obstante, el proceso de selección y dominancia del FD se lleva a cabo por la acción en conjunto de numerosos mecanismos; uno de ellos es la expresión génica. La expresión de genes en una fase determinada del ciclo estral probablemente está asociada con el crecimiento dominancia o atresia de los folículos. Los FD (10.7 ± 0.7 mm) expresan predominantemente 45 genes en las células de la granulosa y de la teca interna; de los cuales algunos son responsables del aumento de la síntesis y producción de E2, como por ejemplo el receptor de la hormona folículo estimulante (FSHR), enzimas esteroidogénicas, citocromo P450, subfamilia XVII (CYP17), citocromo P450, familia XIX, aromatasa (CYP19), inhibina, alfa (INHA), inhibina, beta A, activina A, activina AB, alfa polipéptido (INHBA), entre otros; la expresión de mRNA de estos genes, incrementa con el desarrollo folicular en bovinos y es mayor su expresión en el FD que en los subordinados (Hayashi et al., 2010). Los FD tienen mayor expresión de genes involucrados en supervivencia y crecimiento folicular, como por ejemplo la hormona antimulleriana (AMH), fosfolipasa A2, grupo IB (PLA2G1B), delta 9 desaturasa (SCD2) y proteína (TRB2), la expresión de éstos genes puede estar asociado con el establecimiento y la dominancia folicular (Hayashi et al., 2010).

1.1.1 Folículo dominante

Después de aproximadamente tres días de crecimiento, el folículo más grande de la onda es denominado FD, el cual alcanza un diámetro promedio de 8.5 mm y lo diferencia de los subordinados, evento que se denomina desviación. El FD es dependiente de gonadotropinas, evento fisiológico asociado a un aumento transitorio en los niveles de FSH (Adams et al., 1992), y de los receptores de FSH (FSH-R) en las células de la granulosa; esto indica el comienzo del crecimiento y la dependencia de ese folículo a esta hormona. A medida que crece el FD aumenta la secreción de E2 e inhibina, inhibiendo de esa forma

la producción de FSH en la adenohipófisis, sin embargo, el FD es capaz de continuar su crecimiento con niveles basales; luego aparecen los receptores de LH en las células de la granulosa y experimenta una transición de dependencia de FSH a LH y de esta manera continúa con su crecimiento y desarrollo (Ginther et al., 1999).

Ginther et al. (1999) observaron que cuando se hizo ablación del FD fue seguido de un incremento en la concentración de FSH cinco horas después y posteriormente un folículo continuo con su crecimiento convirtiéndose en dominante dentro de las siguientes ocho horas (Ginther et al., 1999). Al igual que la FSH la LH es esencial para el desarrollo y crecimiento del FD, cuando se inhibió la producción de LH el FD de la primera onda experimentó atresia y no creció más de 7 a 9 mm. Aparentemente es necesaria la LH para que se lleve a cabo la desviación folicular. Una de las funciones de la LH en el desarrollo del FD incluye que las células de la granulosa del folículo, adquieran receptores para LH cerca al comienzo de la desviación folicular (Ginther et al., 2012). Los LH-R son localizados en las células de la teca y de la granulosa de folículos en diferentes estados de desarrollo folicular. A medida que el folículo crece los LH-R aumentan en las células de la teca y de la granulosa.

Durante la fase luteal temprana los pulsos de LH son de menor amplitud y mayor frecuencia (20-30 pulsos/24 horas), en la fase luteal media, los pulsos de LH son de mayor amplitud y de menor frecuencia (6-8 pulsos/24 horas), pero insuficientes para inducir la maduración final y la subsecuente ovulación del FD; por lo tanto, el FD sufre atresia durante la fase luteal del ciclo estral, posteriormente aumenta la secreción de FSH y una nueva onda folicular emerge (Forde et al., 2011; Rahe et al., 1980).

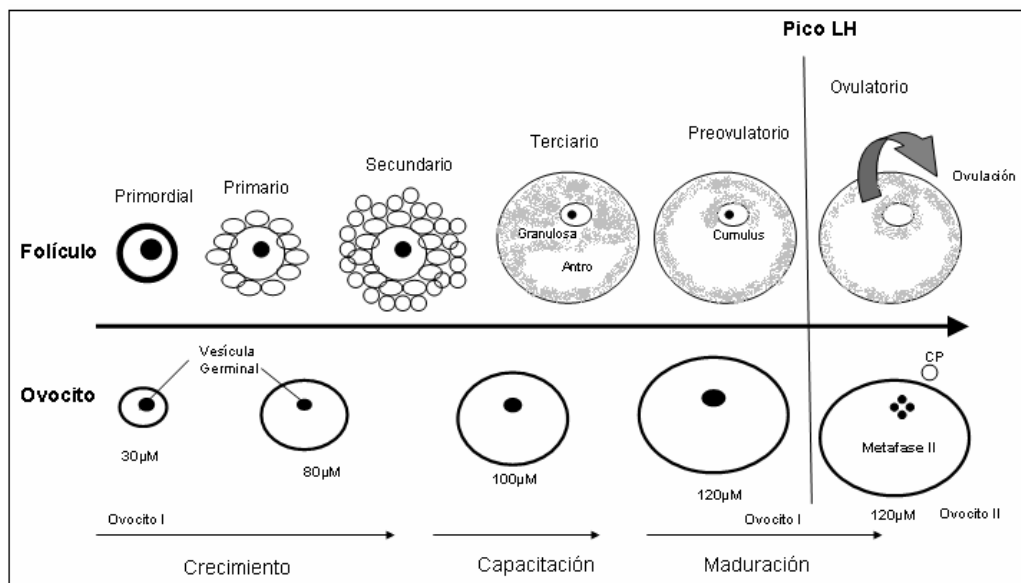
Ginther et al. (2016) encontraron un aumento transitorio de FSH de menor concentración, aproximadamente 4 días antes de la ovulación, este aumento fue asociado temporalmente con: reanudación del crecimiento del FO y aumento de las concentraciones de LH que preceden a la onda preovulatoria de esta hormona. El aumento transitorio de la FSH fue acompañado por un aumento transitorio en los niveles de LH (0.4 ng/ml) niveles relativamente bajos comparados con el pico preovulatorio de LH (6.8 ng/ml). Estos bajos

niveles pueden tener un efecto en el diámetro del folículo, como se indica en la función de esta hormona cuando ocurre la desviación folicular (Ginther et al., 2016).

La producción de E2 en el FD es dependiente de la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH. La unión de la LH a sus receptores estimula la conversión de colesterol a testosterona, la cual una vez producida en las células de la teca pasa a las células de la granulosa donde es aromatizada a estrógenos por la enzima aromatasa (Dorrington et al., 1988; Forde et al., 2011).

Posterior a la fase de dominancia folicular cuando el FD presenta sus componentes completamente desarrollados incluyendo la capacidad de producir cantidades significativas de E2 necesarias para desencadenar la conducta de celo en las hembras, este FD pasa a ser un FO. La maduración del FO depende de la interacción de sustancias como las gonadotropinas, hormonas esteroides, factores de crecimiento, entre otros (Sánchez et al., 1993); el FO presenta un perfil de expresión génica transitoria y única, diferente a la del FD que lo antecede y del cuerpo hemorrágico que comienza a formarse después de la ovulación (Nimz et al, 2009).

Figura 1-3: Representación esquemática del crecimiento del folículo dominante y del oocito por los diferentes estados morfológicos que pasan durante el ciclo estral.



Editado de Mermillot et al., 1999

Cuando la conducta de celo finaliza y el FO se encuentra en su máximo desarrollo y funcionalidad, se desencadena la ovulación en respuesta al aumento preovulatorio de LH, se genera incremento en la síntesis de mRNA que codifica para los receptores de P4, ciclooxigenasa-2, los cuales son indispensables en el proceso de ovulación, favoreciendo el rompimiento del folículo por un área específica, se reactiva la meiosis del oocito y finalmente expulsión de un oocito maduro (Richards, 2005). Una vez se produce la ruptura del folículo el oocito es liberado y es captado por las fimbrias del oviducto. En el ovario, el espacio vacío del folículo ovulado es llenado rápidamente de sangre, y posteriormente se origina una estructura transitoria denominada cuerpo hemorrágico, como preámbulo a la formación y consolidación del cuerpo lúteo (CL) (Hunter et al., 2004).

1.1.2 Cuerpo Lúteo

El CL es una glándula endocrina transitoria formada en el ovario posteriormente a la ovulación, a partir de las células de la granulosa y células tecales del FO, las células tecales expresan las enzimas necesarias para convertir colesterol a andrógenos, los cuales son aromatizados a E2 por las células de la granulosa, antes de la ovulación. La onda preovulatoria de LH resulta en la luteinización de las células de la granulosa y células tecales (formación CL), lo cual implica una alteración de su vía metabólica, cambia su función e incrementa la expresión de enzimas para la conversión de colesterol a P4 (Niswender et al., 2000).

El CL está compuesto por dos tipos de células diferentes morfológica y funcionalmente: células luteales grandes y células luteales pequeñas. Las células luteales grandes son derivadas de las células de la granulosa del FO y representan aproximadamente el 40% del volumen del CL. Las células luteales pequeñas son derivadas de la luteinización de las células de la teca y representan aproximadamente el 20% del volumen del CL (Diaz et al., 2002; Wiltbank, 1994). El 40% restante es ocupado por espacio vascular (20%), células endoteliales (13%) y fibroblastos (6-9%) (Diaz et al., 2002; Wiltbank, 1994).

La concentración de receptores varía en los dos tipos de células luteales: los receptores de prostaglandina (PGF2 α) y estradiol (ER) están localizados principalmente en las células grandes mientras que los receptores de LH son mayores en las células pequeñas, éstas responden a la estimulación de la LH por activación de la proteína quinasa A, para la producción de P4. Las células lúteas grandes muestran una alta constitución basal de producción de P4 que representa más del 80% del total de la P4 luteal y es independiente de la estimulación de la LH (Niswender et al., 1985).

Durante la fase luteal el CL incrementa en tamaño y habilidad para secretar P4. Una vez el CL ha obtenido la maduración en tamaño y alcanzado su máximo potencial para secretar P4, esta es mantenida por unos pocos días (Niswender et al., 2000), si el animal no queda gestante, el CL sufre un proceso de regresión conocido como luteólisis, el cual se divide en: funcional, por la pérdida en la capacidad de sintetizar progesterona; y estructural, por la pérdida de integridad celular (revisado por: Olivera et al., 2007).

Después de una exposición continua de P4 por 8-10 días en el útero, disminuye la expresión de receptores de P4 en el epitelio endometrial, seguido por un rápido aumento en la expresión de receptores de E2 y oxitocina (Spencer et al., 1995). La oxitocina producida por la pituitaria posterior y las células grandes del CL induce el inicio de los pulsos de PGF2 α en el endometrio (Kombé et al., 2003), la cual pasa a través de un mecanismo de contracorriente de la vena uterina a la arteria ovárica ipsilateral al ovario donde se ha formado el CL. La acción de la PGF2 α que conduce a la luteólisis consiste en la inhibición de la esteroidogénesis y la inducción de la apoptosis (revisado por Olivera et al., 2007).

1.2 Gestación

1.2.1 Fertilización

Antes de que suceda la fertilización los oocitos pasan por una serie de cambios fisiológicos complejos y necesarios para que esta se lleve a cabo.

Los oocitos en los folículos se encuentran en arresto meiótico en la fase de diploteno de la profase I (Russell y Robker, 2007; Xu y Greve, 1988), hasta que se produce la estimulación correcta por parte de los factores de crecimiento y también hormonales como por ejemplo

el pico preovulatorio de LH. Los oocitos liberan el primer cuerpo polar y posteriormente estos continúan la meiosis quedando en arresto meiótico de la metafase II (Russell y Robker, 2007; Xu y Greve, 1988); solamente un oocito maduro en la metafase de la segunda división meiótica es capaz de ser fecundado. La fertilización inicia con numerosos cambios complejos tanto en el oocito como en el espermatozoide y finalmente el resultado es un embrión. Una vez ocurre la fertilización el oocito reanuda la meiosis y el segundo cuerpo polar es eliminado, posteriormente se produce la fusión de los pronúcleos de la hembra y del macho y este nuevo individuo en etapa de una célula se llama cigoto, posteriormente aparecen las dos primeras células llamadas blastómeras, que continúan su división celular o mitosis, a razón de una división al día (Lonergan et al., 2016).

El embrión experimenta las primeras divisiones mitóticas y llega al útero aproximadamente con 16 células en el día 4 de la gestación, luego pasa al estado de mórula (masa de células indiferenciadas) y para el desarrollo de mórula a blastocisto necesita de la activación del genoma. La huella génica (Gene imprinting) es un fenómeno en el cual los alelos paternos o maternos de un gen se expresan, mientras que el otro alelo se reprime, resultando en la expresión mono-alélica de los genes del genoma (Swales y Spears, 2005). Una vez se compacta la morula y ocurre la diferenciación celular pasa al estado de blastocisto en el día 7, eclosiona entre el día 9-10, y el blastocisto esférico continúa su crecimiento, va cambiando su morfología a ovoide (días 12-13), tubular (días 14-15), y finalmente filamentosa (días 16-17), después del día 19 el *conceptus* completamente alargado comienza la implantación con aposición y fijación del trofoectodermo al epitelio luminal del endometrio (Degrelle et al., 2005; Lonergan et al., 2016).

1.2.2 Establecimiento de la gestación

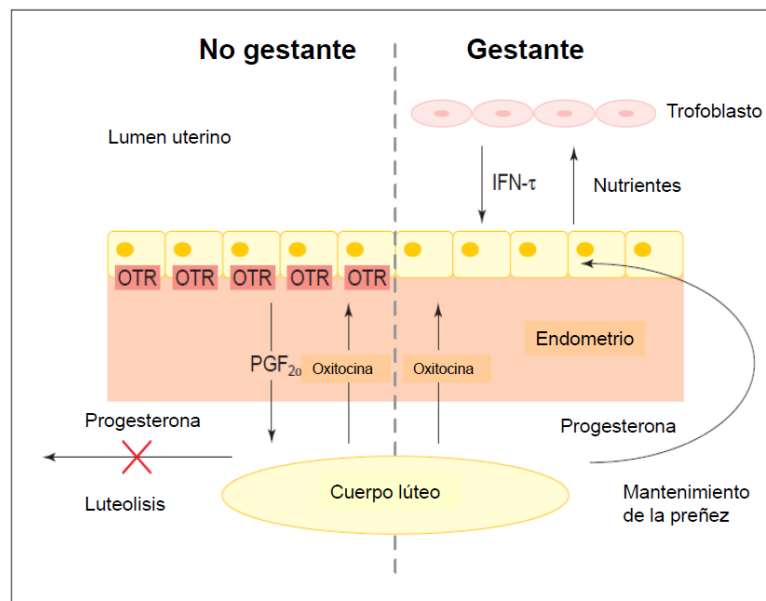
- Reconocimiento materno de la preñez

El establecimiento de la preñez también involucra el reconocimiento materno de esta. El reconocimiento materno de la preñez es el proceso fisiológico cuando el *conceptus* envía señales de su presencia a la madre y prolonga la vida media del CL, manteniendo estable la producción de P4 (Spencer, 2004). La P4 es importante durante la gestación temprana

debido a que estimula y mantiene las funciones endometriales necesarias para el crecimiento del conceptus, implantación, placentación y desarrollo a término del nuevo individuo (Spencer, 2004; Goff, 2002). Este proceso está regulado por múltiples señales celulares y endocrinas, entre el CL, endometrio y embrión.

El conceptus viable en el útero debe ser capaz de interrumpir la ciclicidad reproductiva de la madre, promoviendo la prolongación de la vida de un CL funcional que sintetice niveles adecuados de P4 (Roberts et al., 1999). Durante la elongación del blastocisto en los rumiantes, las células mononucleares del trofoblasto deben secretar cantidades crecientes de interferón tau (INFT), la cual se inicia desde el día 10 y termina entre los días 21-28 de la preñez, pero alcanza su mayor expresión durante los días 14-16, cuando ejerce su efecto luteotrópico (Roberts et al., 1999), se prolonga la acción de la P4 e impide que se incremente la expresión de E2 y OTR en el útero (Spencer et al., 1995), debido a que estabiliza la síntesis y presentación del receptor de progesterona (PR) en el endometrio (Ott et al., 1992).

Figura 1-4: Reconocimiento materno de la gestación en la vaca



Editado de Demmers et al., 2001

El éxito del reconocimiento materno de la preñez en vacas depende de la presencia de un embrión suficientemente desarrollado que produzca suficientes cantidades de INFT, los

cuales también dependen de un apropiado patrón de secreción de P4 materno (Mann y Lamming, 2001). El aumento en las concentraciones de P4 puede proporcionar mejores condiciones para el desarrollo del embrión (Kerbler et al., 1997). Además las acciones antiluteolíticas y luteotrópicas del INFt ayudan a la supervivencia del embrión a través de sus propiedades antivirales e inmunosupresoras. Su actividad antiviral podría servir para proteger el conceptus en la preimplantación (Pontzer et al., 1988). El INFt también suprime la respuesta inmune materna a los antígenos del embrión permitiendo su supervivencia (Pontzer et al., 1991).

En conclusión, el éxito del reconocimiento materno de la preñez en la vaca se basa en un desarrollo embrionario adecuado y en la producción de INFt, que a su vez depende de un patrón apropiado de secreción de P4 después de la ovulación (Mann y Lamming, 2001).

- Implantación

La implantación es un paso crítico en el establecimiento de la preñez ya que el conceptus tiene que adquirir una posición fija en el útero permitiendo así el desarrollo de las estructuras placentarias. Este proceso implica modificaciones celulares tanto en el epitelio uterino como en el trofoblasto (Guillomot, 1995).

En rumiantes la implantación se caracteriza por tres etapas: un largo periodo de pre-unión, una etapa de aposición y una etapa de adhesión. En las vacas el periodo de pre-unión tiene una duración entre 2 y 3 semanas durante el cual el conceptus sale de la zona pelúcida (día 10), pasa por un proceso de elongación y se ubica dentro de la luz uterina (Guillomot, 1995).

Permanentemente se descubren moléculas que participan en la modulación de los procesos de aposición, adhesión y fusión propios del periodo de implantación, se considera que la implantación se termina cuando se han formado todos los placentomas y se ha vascularizado la mayoría del alantocorion, es decir, que en bovinos se puede extender hasta el día 80 de la gestación (Aureliano Hernández et al., 2008).

1.2.3 Progesterona

La P4 es una hormona esteroidea que desempeña un papel fundamental en los eventos reproductivos asociados con el establecimiento y mantenimiento de la gestación; el crecimiento y desarrollo del conceptus requiere la acción de la P4 en el útero para regular la función endometrial. Se han realizado varias investigaciones con el fin de encontrar asociación entre los niveles séricos de P4 los primeros días del ciclo y la gestación temprana; en algunas de ellas se concluye acerca de la existencia de asociación entre estos dos factores, otros refutan la existencia de la misma.

Algunos autores reportan que las vacas gestantes y cíclicas tienen similares niveles de P4 durante los primeros días del ciclo y por lo tanto no existe asociación con la gestación temprana (Forde et al., 2011); además que durante toda la fase luteal del ciclo estral las hembras cíclicas y las gestantes presentaron los mismos niveles hormonales e igualmente no se encontraron diferencias significativas en la expresión de genes en el endometrio los días 5, 7 y 13 post-estro; solo se observaron diferencias durante el reconocimiento materno de la gestación (día 16) cuando el IN Ft proveniente del embrión impide la luteolisis y por lo tanto el sistema endocrino que regula la expresión génica endometrial difiere entre novillas cíclicas y gestantes (Forde et al., 2011). Los cambios que ocurren en el transcriptoma del endometrio son independientes de la presencia de un conceptus hasta que ocurre el reconocimiento materno de la preñez (Forde et al., 2011).

Por el contrario, Lonergan (2011) encontró que los bajos niveles de P4 influyen sobre la expresión génica y la secreción del histotrofo en el lumen uterino. Una menor concentración de P4 en la sangre de vacas lecheras durante el postparto, se asocia con un deterioro de la capacidad del oviducto/útero para contribuir al desarrollo del embrión (Lonergan, 2011). Similarmente Clemente et al. (2009), realizaron un experimento en el cual utilizaron 8500 oocitos de bovinos fertilizados *in vitro* e *in vivo*; y observaron que la transferencia de embriones a un ambiente uterino previamente preparado con elevadas concentraciones de P4, resultó en un aumento de cuatro veces la longitud del conceptus al día 14 de la gestación y que el ARNm para receptores de P4 estuvo presente en todas las etapas del desarrollo embrionario, con lo cual se planteó la posibilidad de un efecto directo de la P4 sobre el embrión.

Varios autores realizaron experimentos con tratamientos de P4 con el fin de establecer una posible relación directa sobre el embrión o indirecta a través de cambios inducidos en el endometrio. Yan et al. (2016) encontraron que los tratamientos con P4 aumentaron la tasa de preñez en vacas con baja fertilidad, cuando los tratamientos con P4 se suministraron entre el día 3 y 7, teniendo en cuenta el día 0 como el día de presentación de celo en las vacas. En otra investigación encontraron que la P4 exógena tuvo un efecto positivo ($P=0.001$) en las concentraciones de la proteína específica de la preñez bovina (PSPB) del día 35 al 63. El crecimiento embrionario y la secreción de la proteína PSPB por el conceptus fueron positivamente estimulados por la P4 exógena durante la preñez temprana (Lopes et al., 2011).

Satterfield et al. (2006), estudiaron el efecto de tratamientos con P4 sobre la pre-implantación o desarrollo del conceptus en ovinos y la galectina 15 (LGALS15), proteína secretada por el epitelio luminal endometrial, que estimula la expresión de otras proteínas como las integrinas las cuales tienen funciones importantes en la elongación del blastocisto y la implantación. El tratamiento con P4 aumentó el diámetro del blastocisto en los días 9 y 12 de la gestación; la cantidad de IN Ft fue aproximadamente 50 veces mayor en los lavados uterinos en ovejas tratadas con P4. La expresión del mRNA para LGALS15 en el epitelio endometrial (glándulas superficiales), en los días 9 y 12 de la gestación fue mayor en ovejas tratadas con P4 que en las que no recibieron tratamiento alguno. Según estos resultados, el desarrollo avanzado de blastocistos en ovejas que recibieron P4, probablemente se debe a una inducción temprana de genes específicos en los epitelios endometriales y a la secreción de componentes del histotrofo uterino.

Bajo estas circunstancias posiblemente no hay asociación de los niveles séricos de P4 con la gestación temprana; probablemente cuando las vacas se encuentran bajo condiciones fisiológicas normales, no se observan diferencias significativas en los niveles de esta hormona en hembras gestantes y cíclicas antes del día 15 post-estro o antes de que ocurra el reconocimiento materno de la gestación. Las diferencias se observarían después del día 15 cuando el IN Ft en hembras gestantes inhibe la luteolisis y el CL continúa produciendo P4; por el contrario en las cíclicas los niveles de P4 disminuyen y posteriormente inicia un nuevo CE.

Por otro lado, cuando se hace la comparación de los niveles de P4 en hembras gestantes con aquellas que presentan algún tipo de alteración o condición que puede influir en la secreción o en los niveles apropiados de esta hormona, sí se deberían observar diferencias significativas. Se podría encontrar asociación de determinado nivel de P4 en un día específico del ciclo con el éxito de una gestación, debido a que se identificarían los niveles de P4 normales que conducen a una gestación o niveles bajos que puedan interferir con la preñez.

De esta manera el establecimiento y mantenimiento de la gestación en las vacas con niveles de P4 menores a 1 ng/ml, estarían doblemente en desventaja, ya que por un lado al haber menos P4 disponible, el desarrollo del embrión será más lento y tendría menor capacidad para producir IN Ft, y por otra parte, los mecanismos que inician la secreción pulsátil de PGF2 α son más sensibles debido a la relación anormal entre P4 y E2. De tal forma que una vaca que tiene buena función del CL mantiene una relación progesterona-estradiol dentro de cierto rango, que hace menos susceptible el mecanismo de inicio de secreción de PGF2 α , mientras que otra vaca con una fase lútea subnormal, no logra una relación adecuada entre estas dos hormonas, por lo cual el inicio de la secreción de la PGF2 α es más sensible (Hernández y Zarco, 1998).

1.3 Mortalidad Embrionaria

La mortalidad embrionaria (ME), fue definida por el Comité Internacional de Nomenclatura Reproductiva (1992) como la pérdida del embrión ocurrida entre la fertilización y final del periodo de diferenciación de los sistemas de órganos, aproximadamente en el día 42 de la gestación en bovinos, cuando termina el periodo embrionario. El periodo fetal se extiende desde ese día hasta el final de la gestación.

La ME es considerada la causa más importante de la prolongación del intervalo entre partos, lo cual implica pérdidas económicas en las industrias lecheras y cárnicas, dado que afecta la producción de leche y el número de terneros nacidos. De Vries (2006) estimó, que en los EE.UU, el costo promedio de una pérdida de gestación estaba entre 555 y 1373 dólares, según la etapa productiva en la cual ocurre la ME. La mayoría de las muertes prenatales ocurren durante el periodo embrionario (<42 d) en bovinos para producción de

carne y leche; y la mayoría de ellas entre el momento de la fertilización y el final de la implantación embrionaria (Santos et al., 2004)

Durante los primeros 14 días se pierde aproximadamente el 30% de las gestaciones, sin que ello se detecte clínicamente (Dunne et al., 2000). Del total de esta ME, el 80% ocurre antes del octavo día, posiblemente porque el paso del estado de mórula a blastocisto es crítico en este contexto. Entre los días 14 y 19 de la gestación, se estimó que había de 5-10% de ME, lo cual puede estar relacionado con fallas en el reconocimiento de la gestación. Después viene el periodo de formación de la placenta, cuando se pierden alrededor del 5 - 10% de los embriones (BonDurant, 2007; Diskin y Morris, 2008).

1.3.1 Causas de Mortalidad Embrionaria

La ME puede deberse a factores maternos, embrionarios o a ambos. Sin embargo, hay alteraciones que contribuyen a aumentar esos niveles, como son: las de orden endocrino o nutricional, el efecto de altas temperaturas, las altas tasas de ovulación (Dodds et al., 1991; Boland y Crosby 1993), las anormalidades cromosómicas (McFeey, 1993), la deficiencia en la vascularización de las vellosidades (Bas et al., 1988), la asincronía entre el embrión y el útero (Pope 1988), algunos cambios en las proteínas por el embrión (Roberts 1990; Roberts et al., 1992) y diversas enfermedades o patologías que conllevan a ME.

- Niveles séricos de Progesterona

Rhinehart et al., (2009), determinaron si las bajas concentraciones de P4 afectaron la pérdida embrionaria tardía o fetal temprana en vacas Holstein. Encontrando que las vacas con concentraciones de P4 < 2.8 ng/ml presentaron mayor probabilidad de perder la gestación durante la placentación. La reducción en la concentración de P4 influyó en la pérdida embrionaria tardía hasta en un 23%.

- Folículo y oocito

Los embriones formados a partir de oocitos incompetentes tienen una menor probabilidad de éxito que los embriones provenientes de oocitos normales. En un hato ubicado en la

Florida, los embriones disminuyeron su capacidad de desarrollo cuando provenían de oocitos y estos principalmente de folículos ováricos persistentes o de vacas expuestas a altas temperaturas (Hansen, 2002). Los oocitos provenientes de quistes foliculares exhiben varias anomalías morfológicas (Mihm et al., 1999). Posterior a la fertilización, el desarrollo anormal de los cigotos puede terminar en ME temprana antes de la fase de las 16-células (Ahmad et al., 1995).

En efecto, los embriones pueden ser anormales como resultado de defectos heredados, errores en la meiosis o en la fertilización, por anomalías cromosómicas, o variaciones en el número y estructura cromosómica como en el caso de la poliploidia, siendo ésta una de las causas de ME (Ayalon, 1978). Cualquier anomalía en la expresión génica que resulte en fallas en la síntesis de moléculas clave para el desarrollo óptimo del embrión y el éxito de la implantación, podría incluirse en los factores genéticos.

- Factores climáticos: Estrés Calórico

La supervivencia de embriones mamíferos durante la pre-implantación depende de que existan las condiciones adecuadas para su desarrollo normal, y del funcionamiento normal de los mecanismos necesarios para sobrevivir aun en condiciones adversas (Betts y King, 2001). En estudios realizados *in vitro* se demostró que embriones de la raza Nelore (*Bos Indicus*) son más resistentes al estrés térmico que los de la raza Holstein (*Bos Taurus*); esta resistencia, de embriones en fases tempranas de desarrollo producidos *in vitro*, es el resultado de la contribución genética de los oocitos y espermatozoides (Eberhardt et al., 2009).

Santos et al. (2009) y Zeron et al. (2001) evaluaron la competencia de vacas expuestas a altas temperaturas, lo cual provocó una menor producción de E2 e inhibina en los folículos y una disminución de la tasa de clivaje y desarrollo hasta el estadio de blastocisto. Los oocitos colectados durante el verano presentaron una morfología anormal, tal vez por cambios en el perfil de ácidos grasos de la membrana del oocito. El estrés calórico afecta el desarrollo del embrión y del feto, especialmente entre la fertilización y las divisiones celulares iniciales (Cartmill et al., 2001; Chebel et al., 2004). Sartori et al., (2002) colectaron embriones el día 6 después de la ovulación de vacas lecheras en lactancia y observaron que sólo el 33.3 y el 52.8% fueron considerados viables cuando las vacas estuvieron

expuestas a estrés calórico o neutralidad térmica, respectivamente. Según sus resultados, cuando el estrés calórico está presente, más del 45% de las preñeces se perdieron para el día 7 de gestación.

En vacas expuestas a 32 grados Celsius por 72 h, inmediatamente después de la inseminación artificial se obtuvo un índice de fertilidad de 0%, en comparación con un grupo control el cual fue sometido a una temperatura de 7 y 21 grados Celsius y en el que se presentó una tasa de concepción del 48% (Diskin y Sreenan, 1980). El estrés calórico reduce en un 72% la secreción de INFT, lo cual repercute negativamente sobre el funcionamiento normal del CL y la viabilidad del embrión (Putney et al., 1988).

1.4 Folículo ovulatorio, cuerpo lúteo y progesterona en relación con el éxito de la gestación en vacas lecheras

Desde hace varios años se ha planteado la hipótesis, que la eficiencia reproductiva declina cuando aumenta la producción de leche, en vacas que producen altos volúmenes como la raza Holstein (Zuluaga et al., 2006). A pesar de que se han realizado varias investigaciones con el fin de identificar los diferentes factores que disminuyen la eficiencia reproductiva en estas razas, aún no están totalmente dilucidados. La disminución en la fertilidad de las vacas lactantes, parece ser el resultado de la iniciación y mantenimiento de la lactancia (Wiltbank et al., 2011). Es por esta razón que las vacas en producción evidenciarían una menor fertilidad comparada con las novillas (Wolfenson et al., 2004). Aunque muchos aspectos del crecimiento folicular ovárico son similares a los observados en novillas, existen diferencias específicas en el desarrollo folicular que pueden estar asociados con los cambios en la fisiología reproductiva en vacas lactantes. Algunos de ellos incluyen disminución en los niveles séricos de E2 en el periodo cercano al estro y ovulación de folículos que son más grandes del tamaño óptimo (Wiltbank et al., 2011).

Wolfenson et al., (2004) evaluaron las diferencias en cuanto al desarrollo folicular y las concentraciones circulantes de hormonas esteroideas entre vacas lactantes y novillas. El tamaño del FO fue mayor en vacas con respecto a las novillas (16.5 +/- 0.05 mm vs 13.0

+/- 0.3 mm; $P < 0.01$). Asimismo, la dominancia del preovulatorio y los niveles séricos de FSH tendieron a ser mayores en vacas; por el contrario, en novillas los niveles de E2 cerca al momento del celo, la onda preovulatoria de LH (20 vs 9 ng/ml; $P < 0.01$), y las concentraciones de P4 del día 3 al día 16 del ciclo fueron mayores. Wolfenson et al., (2004) concluyen que la fertilidad inadecuada de las demás vacas podría estar relacionada con la prolongación de la dominancia del FO, disminución en los niveles séricos de E2 y retraso de la onda preovulatoria de LH, lo cual posiblemente se relaciona con una baja secreción de P4 post-ovulatoria. Los bajos niveles de P4 antes o después de la inseminación artificial (IA) podrían estar involucrados en la disminución de la fertilidad de las vacas lecheras.

Por consiguiente se sugiere que en algunos casos la fertilidad está asociada al tamaño y viabilidad del FO y del oocito. Las vacas sincronizadas e inseminadas a tiempo fijo (IATF) que presentan FO < 10.7 mm y > 15.7 mm tienen menor probabilidad ($P < 0.05$) de quedar gestantes (Perry et al., 2007), lo cual indica que hay una relación entre el porcentaje máximo de gestación ($68 \pm 4.9\%$) y la presencia de tamaños foliculares en promedio de 12.8mm. La inducción prematura de la ovulación puede reducir la probabilidad de gestación y aumentar la presentación de ME, lo que probablemente está relacionado con la competencia inadecuada del oocito y un ambiente uterino subóptimo (Perry et al., 2007).

Lopes et al., (2007) indican que en las vacas Holstein sincronizadas para IATF, el tamaño del FO y las concentraciones plasmáticas de E2 el día de la IA fueron mayores en los animales que quedaron gestantes; asimismo las concentraciones de P4 sérica fueron mayores después del día 5 post-IA, concluyendo que la gestación temprana se relaciona con el diámetro del FO y los niveles de E2 en plasma el día de la IA. Por el contrario Colazo et al., (2015), encontraron que en vacas lecheras el promedio de diámetros de FO fue de 16.4 ± 0.1 mm (rango 11 a 25mm; $n=1048$) los diámetros más comunes fueron 15, 16 y 17 mm, sin embargo, no se encontró asociación entre el diámetro del FO y la gestación al día 32 y 62 post IA; aun así los FO de gran tamaño > 20 mm de diámetro, se identificaron como predictores de pérdida de gestación en vacas lactantes sometidas a protocolos de IATF.

Se han realizado varios estudios al respecto, sin embargo, los resultados han sido variados y contradictorios. Algunos autores indican que existe un rango óptimo de tamaño folicular en el que se pueden llegar a altas tasas de supervivencia embrionaria (Machado et al., 2012; Perry et al., 2007). Probablemente se debe a que el tamaño del FO, influencia el

tamaño luteal y de esta forma su funcionamiento (niveles séricos de P4) durante la fase luteal temprana (Vasconcelos et al., 2001). En contraste con estos resultados, otras investigaciones indican que a mayor diámetro folicular hay mayores niveles séricos de P4 y porcentajes de preñez (Filho et al., 2010; Lopez et al., 2007), otros estudios sugieren que no existe asociación del diámetro del FO, tamaño del CL, niveles séricos de P4 y porcentajes de preñez (Lynch et al., 2010; Pfeifer et al., 2009).

Como se puede evidenciar, en la literatura se encuentra una amplia variación en los resultados, en Colombia se han realizado pocos estudios al respecto y utilizando igualmente protocolos de IATF. Duica y Grajales (2010) concluyeron que no hay efecto del diámetro folicular sobre el volumen del CL en hembras receptoras incluidas en un protocolo de transferencia de embriones a tiempo fijo; sin embargo, el volumen de CL afectó positivamente la concentración de P4 plasmática al momento de transferir un embrión. Los autores sugieren que los niveles de P4 pueden ser determinantes en la preparación del ambiente uterino en el que se va a desarrollar el embrión y probablemente tiene un efecto positivo sobre el porcentaje de preñez después de la transferencia de embriones. Posterior a la ovulación de un FO, se formará un CL que secretara P4, probablemente existe un rango óptimo en el tamaño del FO, asociado a un CL funcional y a mayores porcentajes de gestación.

Referencias

- Abdalla, H., Elghafghuf, A., Elsohaby, I., & Nasr, M. a. F. (2017). Maternal and non-maternal factors associated with late embryonic and early fetal losses in dairy cows. *Theriogenology*. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.04.005>
- Adams, G. P., Matteri, R. L., Kastelic, J. P., Ko, J. C. H., & Ginther, O. J. (1992). Association between surges of follicle-stimulation hormone and the Emergence of Follicular Waves in Heifers.
- Adams GP, Jaiswal R, Singh J, Malhi P (2008) Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology* 69:72-80.
- Aerts JMJ y Bols PEJ. (2010). Ovarian Follicular Dynamics. A review with Emphasis on the Bovine Species. Part II: Antral Development, Exogenous Influence and Future Prospects. *Reprod Dom Anim* 45, 180–187.
- Ahmad, N., Schrick, F.N., Butcher, R.L., Inskeep, E.K., (1995). Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biology of Reproduction* 52, 1129-1135.
- Arana, C.A., Echevarría, L.C., Segura, J. (2006). Factores Que Afectan El Intervalo Parto-Primer Servicio Valle Del Mantaro Durante La Época Lluviosa, 17(2), 108–113.
- Ayalon, N., (1978). A review of embryonic mortality in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility* 54, 483-493.

- Bas, H.L.M., Ruud, Y.M.D., Louis, L.H.P., Niek, E. (1988). Early pregnancy wastage: Relationship between chorionic vascularization and embryonic development. *Fertil Steril* 49(2): 216-220.
- Beam, S. W., & Butler, W. R. (1997). Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biology of Reproduction*, 56(1), 133–142. <http://doi.org/10.1095/biolreprod56.1.133>
- Betts, D.H., King, W.A., (2001). Genetic regulation of embryo death and senescence. *Theriogenology* 55, 171-191.
- Binelli M, Machado R, Bergamaschi MACM, Bertan CM. (2009). Manipulation of ovarian and uterine function to increase conception rates in cattle. *Anim. Reprod.* 6, 125–134.
- Boland, M.P., Crosby, T.F. (1993). Fecundin: an immunological approach to enhance fertility in sheep. *Animal Reprod Sci* 33(1-4):143-158.
- BonDurant, R.H., (2007). Selected diseases and conditions associated with bovine conceptus loss in the first trimester. *Theriogenology* 68, 461-473.
- Busch DC, Atkins JA, Bader JF, Schafer DJ, Patterson DJ, Geary TW, Smith MF. (2008). Effect of ovulatory follicle size and expression of estrus on progesterone secretion in beef cows. *J. Anim. Sci.* 86, 553–563.
- Butler, W. R. (2003). Energy balance relationships with follicular development ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science*, 83(2-3), 211–218. [http://doi.org/10.1016/S0301-6226\(03\)00112-X](http://doi.org/10.1016/S0301-6226(03)00112-X)
- Cartmill, J.A., El-Zarkouny, S.Z., Hensley, B.A., Rozell, T.G., Smith, J.F., Stevenson, J.S., (2001). An Alternative AI Breeding Protocol for Dairy Cows Exposed to Elevated Ambient Temperatures before or after Calving or Both. *Journal of Dairy Science* 84, 799-806.

- Chapwanya, A., Meade, K. G., Doherty, M. L., Callanan, J. J., Mee, J. F., & O'Farrelly, C. (2009). Histopathological and molecular evaluation of Holstein-Friesian cows postpartum: toward an improved understanding of uterine innate immunity. *Theriogenology*, 71(9), 1396–407. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.01.006>
- Chebel, R.C., Santos, J.E.P., Reynolds, J.P., Cerri, R.L.A., Juchem, S.O., Overton, M., (2004). Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science* 84, 239-255.
- Clemente M, de La Fuente J, Fair T, Al Naib A, Gutierrez-Adan A, Roche JF, Rizos D, Lonergan P. 2009. Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium. *Reproduction* 138: 507-517.
- Colazo, M. G., Behrouzi, A., Ambrose, D. J., & Mapletoft, R. J. (2015). Diameter of the ovulatory follicle at timed artificial insemination as a predictor of pregnancy status in lactating dairy cows subjected to GnRH-based protocols. *Theriogenology*, 84(3), 377–83. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.03.034>
- Committee on Bovine Reproductive Nomenclature. 1972. Recommendations for standardizing bovine reproductive terms. *The Cornell Veterinarian*. 62: 216-237.
- Crowe, M. a, Goulding, D., Baguisi, a, Boland, M. P., & Roche, J. F. (1993). Induced ovulation of the first postpartum dominant follicle in beef suckler cows using a GnRH analogue. *Journal of Reproduction and Fertility*, 99(2), 551–555. <http://doi.org/10.1530/jrf.0.0990551>
- Crowe, M. a, Padmanabhan, V., Mihm, M., Beitins, I. Z., & Roche, J. F. (1998). Resumption of follicular waves in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite major changes in steroid and luteinizing hormone concentrations. *Biology of Reproduction*, 58(6), 1445–1450. <http://doi.org/10.1095/biolreprod58.6.1445>
- Degrelle, S. a., Champion, E., Cabau, C., Piumi, F., Reinaud, P., Richard, C., Hue, I. (2005). Molecular evidence for a critical period in mural trophoblast development in

bovine blastocysts. *Developmental Biology*, 288(2), 448–460.
<http://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.09.043>

- Demmers, K. J., Derecka, K., & Flint, a. (2001). Trophoblast interferon and pregnancy. *Reproduction*, 121(1), 41–49. <http://doi.org/10.1530/reprod/121.1.41> 29
- De Vries, A., 2006. Economic Value of Pregnancy in Dairy Cattle¹. *Journal of dairy science* 89, 3876-3885.
- Diaz, F. J., Anderson, L. E., Wu, Y. L., Rabot, a., Tsai, S. J., & Wiltbank, M. C. (2002). Regulation of progesterone and prostaglandin F₂?? production in the CL. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 191(1), 65–80. [http://doi.org/10.1016/S0303-7207\(02\)00056-4](http://doi.org/10.1016/S0303-7207(02)00056-4)
- Diskin, M.G., Morris, D.G., 2008. Embryonic and Early Foetal Losses in Cattle and Other Ruminants. *Reproduction in Domestic Animals* 43, 260-267.
- Diskin, M.G., Sreenan, J.M., 1980. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *Journal of Reproduction and Fertility* 59, 463-468.
- Dobson, H., Smith, R. F., Knight, C. H., Sheldon, I. M., & Glasgow, G. (2007). Europe PMC Funders Group The high producing dairy cow and its reproductive performance Contents : *Reproduction of Domestic Animals*, 42(Suppl 2), 17–23. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00906.x>.
- Dodds, K.G., Davis, G.H., Eleen, J.M., Leaace, K.L., Owens, J.L. The effect of Booroola genotype on some reproductive traits in a Booroola Merino Hock. Major genes for reproduction in Sheep. 2nd international workshop. Toulouse, France. July, pp 359-366. 1991.
- Dorrington J, Chuma AV and Bendell JJ (1988) Transforming growth factor b and follicle-stimulating hormone promote rat granulosa cell proliferation. *Endocrinology* 123, 353–359.

- Duica A., Grajales H. 2010. Efecto del diámetro del folículo ovulatorio, tamaño del cuerpo lúteo y perfiles de progesterona sobre la tasa de preñez en la hembra receptora de embriones Bovinos. Tesis de Maestría. Bogotá, Colombia. Universidad Nacional de Colombia.
- Dunne, L.D., Diskin, M.G., Sreenan, J.M., 2000. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. *Animal Reproduction Science* 58, 39-44.
- Eberhardt, B.G., Satrapa, R.A., Capinzaiki, C.R.L., Trinca, L.A., Barros, C.M., 2009. Influence of the breed of bull (*Bos taurus indicus* vs. *Bos taurus taurus*) and the breed of cow (*Bos taurus indicus*, *Bos taurus taurus* and crossbred) on the resistance of bovine embryos to heat. *Animal Reproduction Science* 114, 54-61.
- Filho, M. F., Crespilho, a. M., Santos, J. E. P., Perry, G. a., & Baruselli, P. S. (2010). Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. *Animal Reproduction Science*, 120(1-4), 23–30. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.03.007>
- Forde, N., Beltman, M. E., Lonergan, P., Diskin, M., Roche, J. F., & Crowe, M. a. (2011). Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Animal Reproduction Science*, 124(3-4), 163–169. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.025>
- Gimenes, L. U., Sá Filho, M. F., Carvalho, N. a T., Torres-Júnior, J. R. S., Souza, a. H., Madureira, E. H., ... Baruselli, P. S. (2008). Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology*, 69(7), 852–858. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.01.001>
- Ginther, O. J., Kot, Kulick, & Wiltbank. (1997). Emergence and Deviation of Follicles during the Development of Follicular waves in cattle. *Theriogenology*, 48(48), 75–87.
- Ginther, O. J., Baldrighi, J. M., Siddiqui, M. a R., & Wolf, C. a. (2016). Characteristics and functions of a minor FSH surge near the end of an interovulatory interval in *Bos*

taurus heifers. *Domestic Animal Endocrinology*, 56, 63–69.
<http://doi.org/10.1016/j.domaniend.2016.03.002>

- Ginther, O. J., Bergfelt, D. R., Kulick, L. J., & Kot, K. (1999). Selection of the dominant follicle in cattle: Establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations. *Theriogenology*, 52(6), 1079–1093. [http://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00196-X](http://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00196-X)
- Ginther, O. J., Khan, F. a., Hannan, M. a., Rodriguez, M. B., Pugliesi, G., & Beg, M. a. (2012). Role of LH in luteolysis and growth of the ovulatory follicle and estradiol regulation of LH secretion in heifers. *Theriogenology*, 77(7), 1442–1452. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.11.014>
- Goff AK. 2002. Embryonic Signals and Survival. *Reproduction in Domestic Animals*. 37: 133-139.
- Grimard, B., Freret, S., Chevallier, a., Pinto, a., Ponsart, C., & Humblot, P. (2006). Genetic and environmental factors influencing first service conception rate and late embryonic/foetal mortality in low fertility dairy herds. *Animal Reproduction Science*, 91(1-2), 31–44. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.03.003>
- Guáqueta, H., Zambrano, H., Jiménez, C. (2014). Factores que afectan la reactivación ovárica postparto en vacas Holstein, en el trópico alto. *Revista MVZ Cordoba*, 19(1), 3970–3983.
- Guillomot M 1995 Cellular interactions during implantation in domestic ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 49 39–51.
- Hansen, P.J., 2002. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. *Journal of Animal Science* 80, E33-E44.
- Hayashi, K.-G., Ushizawa, K., Hosoe, M., & Takahashi, T. (2010). Differential genome-wide gene expression profiling of bovine largest and second-largest follicles: identification of genes associated with growth of dominant follicles.

Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E, 8, 11. <http://doi.org/10.1186/1477-7827-8-11>

- Hernández, C., & Zarco, A. (1998). Función Del Cuerpo Lúteo Y Muerte Embrionaria En Rumiantes. *Ciencia Veterinaria*, 8(54), 1–28.
- Hernández A, Góngora A, Jimenez C, Rodríguez J, Prieto E, Chacón L, Escobar C. 2008 Reproducción en la Vaca Fisiología y Aplicaciones. En. *Implantación Embrionaria y Reconocimiento Materno de la Gestación. Mortalidad Embrionaria. Causas y Evaluación*. 1ra ed. Universidad Nacional de Colombia. P. 86-151.
- Hunter, M. G., Robinson, R. S., Mann, G. E., & Webb, R. (2004). Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Animal Reproduction Science*, 82-83, 461–477. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.05.013>
- Jaramillo, A., & Areiza, A. (2012). Estudios de Mercado: Análisis del mercado de la leche y derivados lácteos en Colombia. *Industria Y Comercio: Superintendencia*. Pg 12-16.
- Kerbler, L., Buhr, M., Jordan, L., Leslie, K., & Walton, J. (1997). Concentration and Interferon-Tau Synthesis By the Conceptus in. *Science*, (97), 703–714.
- Kombé, A., Sirois, J., & Goff, A. K. (2003). Prolonged progesterone treatment of endometrial epithelial cells modifies the effect of estradiol on their sensitivity to oxytocin. *Steroids*, 68(7–8), 651–658. [http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0039-128X\(03\)000941](http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0039-128X(03)000941)
- Lonergan, P. (2011). Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. *Theriogenology*, 76(9), 1594–1601. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.06.012>
- Lonergan, P., Fair, T., Forde, N., & Rizos, D. (2016). Embryo development in dairy cattle. *Theriogenology*, 86(1), 270–277. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.04.040>

- Lopes, a. S., Butler, S. T., Gilbert, R. O., & Butler, W. R. (2007). Relationship of pre-ovulatory follicle size, estradiol concentrations and season to pregnancy outcome in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 99(1-2), 34–43. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.04.056>
- Lopes-da-Costa, L., Chagas e Silva, J., Deloche, M.C., Jeanguyot, N., Humblot, P., Horta, A.E.M., 2011. Effects of embryo size at transfer (whole versus demi) and early pregnancy progesterone supplementation on embryo growth and pregnancy-specific protein bovine concentrations in recipient dairy heifers. *Theriogenology* 76, 522-531.
- López-Gatius F, Garbayo JM, Santolaria P, Yániz J, Ayad A, Sousa NM, Beckers JF, 2007. Milk production correlates negatively with plasma levels of pregnancy-associated glycoprotein (PAG) during the early fetal period in high producing dairy cows with live fetuses. *Domestic Animal Endocrinology*. 32: 29-42.
- Lynch, C.O., Kenny, D.A., Childs, S., Diskin, M.G., 2010. The relationship between periovulatory endocrine and follicular activity on corpus luteum size, function, and subsequent embryo survival. *Theriogenology* 73, 190–198.
- Mann, G. E., & Lamming, G. E. (2001). Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction*, 121(1), 175–180. <http://doi.org/10.1530/reprod/121.1.175>
33
- Machado LF, Bonilla SC, Schneider A, Schmitt E, Nunes M. 2012. Effect of the ovulatory follicle diameter and progesterone concentration on the pregnancy rate of fixed-time inseminated lactating beef cows. *R. Bras. Zootec.*, v.41, n.4, p.1004-1008.
- McFeey, R.A. Chromosome abnormalities. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice* 9(1):11-22. 1993.

- Mermillod P, Oussaid B, Cognie Y. 1999. Aspects of follicular and oocyte maturation that affect the developmental potential of embryos. *J Reprod Fertil Suppl* 54:449-460.
- Mihm, M., Curran, N., Hyttel, P., Knight, P.G., Boland, M.P., Roche, J.F., 1999. Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid oestradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 116, 293-304.
- Nett, T. M., Cermak, D., Braden, T., Manns, J., & Niswender, G. (1988). Pituitary receptors for GnRH and estradiol, and pituitary content of gonadotropins in beef cows. II. Changes during the postpartum period. *Domestic Animal Endocrinology*, 5(1), 81–89. [http://doi.org/10.1016/0739-7240\(88\)90029-X](http://doi.org/10.1016/0739-7240(88)90029-X)
- Nimz, M., Spitschak, M., Schneider, F., Fürbass, R., & Vanselow, J. (2009). Down-regulation of genes encoding steroidogenic enzymes and hormone receptors in late preovulatory follicles of the cow coincides with an accumulation of intrafollicular steroids, 37, 45–54. <http://doi.org/10.1016/j.domaniend.2009.02.002>
- Niswender, G. D., Juengel, J. L., Silva, P. J., Rollyson, M. K., & McIntush, E. W. (2000). Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiological Reviews*, 80(1), 1–29. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10617764>
- Niswender GD, Schwall RH, Fitz TA, Farin CE, Sawyer HR. 1985. Regulation of luteal function in domestic ruminants: new concepts. *Recent Progress in Hormone Research*. 41: 101-151
- 34 Tamaño del folículo ovulatorio, volumen del cuerpo lúteo y niveles séricos de progesterona, durante el ciclo estral y gestación temprana en vacas Holstein en Bogotá
- Olivera, Tarazona, Ruíz, & Giraldo. (2007). Vías implicadas en la luteólisis bovina. *Rev Col Cienc Pec*, 20, 387–393.
- Ott, T.L., Mirando, M.A., Davis, M.A. and Bazer, F. W. (1992). Effects of ovine conceptus secretory proteins and progesterone on oxytocin-stimulated endometrial production of prostaglandin and turnover of inositol phosphate in. *Journal of Reproduction and Fertility*, (95), 19–29.

- Perry, G. a., Smith, M. F., Roberts, a. J., MacNeil, M. D., & Geary, T. W. (2007). Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *Journal of Animal Science*, 85(3), 684–689. <http://doi.org/10.2527/jas.2006-519>
- Pfeifer, L. F. M., Mapletoft, R. J., Kastelic, J. P., Small, J. a., Adams, G. P., Dionello, N. J., & Singh, J. (2009). Effects of low versus physiologic plasma progesterone concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. *Theriogenology*, 72(9), 1237–1250. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.07.019>
- Pontzer, C. H., Torres, B. A., Vallet, J. L., Bazer, F. W., & Johnson, H. M. (1988). Antiviral activity of the pregnancy recognition hormone ovine trophoblast protein-1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 152(2), 801–807. [http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0006-291X\(88\)80109-8](http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0006-291X(88)80109-8)
- Pontzer, H. C., Bazer, F. W., & Johnson, H. M. (1991). Antiproliferative Activity of a Pregnancy Recognition Hormone, Ovine Trophoblast Protein-11. *Cancer Research*, 51(19), 5304–5307.
- Pope, W.F. Uterine asynchrony: a cause of embryonic loss. *Biol Reprod* 39(5): 999-1003.1988.
- Putney, D.J., Malayer, J.R., Gross, T.S., Thatcher, W.W., Hansen, P.J., Drost, M., 1988. Heat stress-induced alterations in the synthesis and secretion of proteins and prostaglandins by cultured bovine conceptuses and uterine endometrium. *Biology of Reproduction* 39, 717-728.
- Rahe, C. H., Owens, R. E., Fleeger, J. L., Newton, H. J., & Harms, P. G. (1980). Pattern of Plasma Luteinizing Hormone in the Cyclic Cow: Dependence upon the Period of the Cycle. *Endocrinology*, 107(2), 498–503. <http://doi.org/10.1210/endo-107-2-498>

- Rathbone, M. J., Kinder, J. E., Fike, K., Kojima, F., Clopton, D., Ogle, C. R., & R. Bunt, C. (2001). Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 50(3), 277–320. [http://doi.org/10.1016/S0169-409X\(01\)00156-9](http://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00156-9).
- Richards J. 2005. Ovulation: New factors that prepare the oocyte for fertilization. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 234: 75–79.
- Roberts, R. M., Ealy, a. D., Alexenko, a. P., Han, C. S., & Ezashi, T. (1999). Trophoblast interferons. *Placenta*, 20(4), 259–264. <http://doi.org/10.1053/plac.1998.0381>
- Roberts, R.M., Cross, J.C., Leaman, D.W. Interferons as hormones of pregnancy. *Endocr Rev* 13:432-452. 1992.
- Russell, D. L., & Robker, R. L. (2007). Molecular mechanisms of ovulation: Coordination through the cumulus complex. *Human Reproduction Update*, 13(3), 289–312. <http://doi.org/10.1093/humupd/dml062>
- Sánchez T, Wehrman M Bergfeld E, Petters K, Kojima F, Cupp A, Mariscal V, Kittok R, Rasby R, Kinder J. 1993. Pregnancy rate is greater when the corpus luteum is present during the period of progestin treatment to synchronize time of estrus in cow and heifers. *Biology of Reproduction*. 49: 1102-1107.
- Santos, J.E.P., Thatcher, W.W., Chebel, R.C., Cerri, R.L.A., Galvão, K.N., 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal reproduction science* 82, 513-535.
- Santos, J.E.P., Rutigliano, H.M., Filho, M.F.S., 2009. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science* 110, 207-221.
- Sartori, R., Sartor-Bergfelt, R., Mertens, S.A., Guenther, J.N., Parrish, J.J., Wiltbank, M.C., 2002. Fertilization and Early Embryonic Development in Heifers and Lactating Cows in Summer and Lactating and Dry Cows in Winter. *Journal of Dairy Science* 85, 2803-2812.

- Satterfield, M.C., Bazer, F.W., Spencer, T.E., 2006. Progesterone Regulation of Preimplantation Conceptus Growth and Galectin 15 (LGALS15) in the Ovine Uterus. *Biology of Reproduction* 75, 289-296.
- Savio, J. D., Boland, M. P., & Roche, J. F. (1990). Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, 88(2), 581–591. <http://doi.org/10.1530/jrf.0.0880581>
- Senosy, W. S., Uchiza, M., Tameoka, N., Izaiké, Y., & Osawa, T. (2009). Association between evaluation of the reproductive tract by various diagnostic tests and restoration of ovarian cyclicity in high-producing dairy cows. *Theriogenology*, 72(9), 1153–1162. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.07.007>
- Spencer, T. (2004). Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Animal Reproduction Science*, 15, 1–15. [http://doi.org/10.1016/S0378-4320\(04\)00070-3](http://doi.org/10.1016/S0378-4320(04)00070-3)
- Spencer TE, Ing NH, Ott TL, Mayes JS, Becker WC, Watson GH, Mirando MA, Bazer FW. 1995. Intrauterine injection of ovine interferon-tau alters oestrogen receptor and oxytocin receptor expression in the endometrium of cyclic ewes. *J Mol Endo.* 15:203–220.
- Swales, a. K. E., & Spears, N. (2005). Genomic imprinting and reproduction. *Reproduction*, 130(4), 389–399. <http://doi.org/10.1530/rep.1.00395>
- Vasconcelos J, Sartori R, Oliveira H, Guenther J, Wiltbank M. 2001. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*. 56, 2: 307-314.
- Walsh, S. W., Williams, E. J., & Evans, a. C. O. (2011a). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 123(3-4), 127–138. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.12.001>
- Wiebold, J.L., 1988. Embryonic mortality and the uterine environment in first-service lactating dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 84, 393-399.

- Wiltbank, M. C. (1994). Cell types and hormonal mechanisms associated with mid cycle corpus luteum function. *Journal of Animal Science*, 72, 1873–1883. 37
- Wiltbank MC, Lopez H. Sartori R , Sangsritavong S and Gümen A. 2006. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 65, 17–29.
- Wiltbank, M. C., Sartori, R., Herlihy, M. M., Vasconcelos, J. L. M., Nascimento, A. B., Souza, A. H., Gumen, A. (2011). Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 76(9), 1568–82. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.08.012>
- Wolfenson D, Inbar G, Roth Z, Kaim M, Bloch A, Braw R. 2004. Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. *Theriogenology* 62:1042–1055.
- Xu, K. P., & Greve, T. (1988). A detailed analysis of early events during in-vitro fertilization of bovine follicular oocytes. *Reproduction*, 82(1), 127–134. <http://doi.org/10.1530/jrf.0.0820127>
- Yan, L., Robinson, R., Shi, Z., & Mann, G. (2016). Efficacy of progesterone supplementation during early pregnancy in cows: A meta-analysis. *Theriogenology*, 85(8), 1390–1398.e1. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.12.027>
- Zeron, Y., Ocheretny, A., Kedar, O., Borochoy, A., Sklan, D., Arav, A., 2001. Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. *Reproduction* 121, 447-454.
- Zuluaga JE, Salazar VE, Múnera D. 2006. El cruzamiento como estrategia para mejorar la rentabilidad de hatos lecheros. *Revista la Sallista de investigación*, julio-diciembre, año/vol. 3 número 002. Pp. 48-52.

2. Relación del diámetro del folículo ovulatorio, volumen del cuerpo lúteo y niveles séricos de progesterona, sobre el porcentaje de gestación en vacas Holstein

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la relación entre el diámetro del folículo ovulatorio (FO), el volumen del cuerpo lúteo (CL), los niveles séricos de progesterona (P4) con el porcentaje de la gestación. Se utilizaron 19 vacas Holstein de 2 a 6 partos ubicadas en Bogotá. A partir del día 40 posparto se evaluaron dos fases consecutivas, la primera fase correspondió al ciclo estral y la segunda fase correspondió a la gestación temprana o repetición de celo. Se detectó el celo al 100% de las hembras y se realizó ultrasonografía para evaluar el diámetro del FO, confirmar la ovulación, y posteriormente evaluar el volumen del CL los días 6, 9, 12 y 15 del ciclo; en estos días también se tomaron muestras de sangre para determinar los niveles séricos de P4. Al segundo celo se realizó inseminación artificial (IA) y se diagnosticó la gestación 30 días post IA. El 47.36% de las vacas se diagnosticaron como gestantes, y el 52.63% como no gestantes. Las gestantes presentaron diámetros de FO (17.85 ± 2.39 mm) significativamente más pequeños ($p < 0.05$) comparados con las no gestantes (21.10 ± 2.86 mm), las vacas que presentaron diámetros de FO más pequeños tuvieron mayor posibilidad de quedar gestantes (OR=0.624, IC 95% (0.4-0.9) ($p < 0.05$)). En los dos grupos no hubo diferencias significativas en los volúmenes de los CL ($p = 0.10$) y los niveles séricos de P4 ($p = 0.39$) a los días 6, 9, 12 y 15, es decir, que independientemente del tamaño del CL y del estado reproductivo de las vacas, los CL de estos animales produjeron similares niveles séricos de P4. Los valores promedios de los volúmenes de los CL y la P4 fueron significativamente diferentes ($p = 0.000$) a través del tiempo en las dos fases; y esta relación fue lineal ($p = 0.000$) y cuadrática ($p = 0.000$). Este estudio muestra que no hubo diferencias significativas en los niveles séricos de P4 y los volúmenes de los CL los días 6, 9, 12 y 15 post-IA cuando se

compararon los valores obtenidos en vacas gestantes con los de las no gestantes. Las vacas que presentaron diámetros promedios de FO de 17.85 ± 2.39 mm tuvieron mayor posibilidad de quedar gestantes.

Palabras clave: Posparto, ciclo estral, gestación, ovulación.

ABSTRACT

To evaluate the relationship among ovulatory follicle size, corpus luteum (CL) volume, and progesterone (P4) serum levels with pregnancy occurrence, twenty Holstein cows were used in Bogotá, Colombia. After the 40th day postpartum, two consecutive phases were evaluated, as follows: 1) estrous cycle defined as the period between the initiation of the first and the following estrus; 2) early pregnancy (or return to estrus). Ultrasonic examination was performed to evaluate ovulatory follicle (OF) diameter until ovulation was confirmed and CL volume on days 6, 9, 12 and 15 of the cycle; also, serum P4 levels were determined during the abovementioned days. Cows were artificially inseminated after the first ovarian cycle and pregnancy was diagnosed 30 days post AI. Only 47.36% of the cows were diagnosed as pregnant. Pregnant cows had smaller ($p < 0.05$) OF diameters (17.85 ± 2.39 mm) than non-pregnant female (21.10 ± 2.86 mm), cows with smaller OF were more probable to become pregnant (OR=0.624, IC 95% (0.4-0.9) ($p < 0.05$). In these groups no significant differences was encountered in the CL volume ($p = 0.10$) and P4 serum levels ($p = 0.39$) values. Serum P4 levels were not dependent on CL size and reproductive status, and The CL produced similar levels of P4. This study shows that there was not significant difference in serum P4 levels and the CL volume on days 6, 9, 12 and 15 post-AI when comparing pregnant with non-pregnant cows. The cows with OF diameters of 17.85 ± 2.39 mm were more likely to become pregnant.

Keywords: Postpartum, estrous cycle, pregnancy, ovulation.

2.1 Introducción

La eficiencia reproductiva en los hatos lecheros es de gran importancia debido a que el ciclo de la lactancia inicia una vez a ocurrido el parto, por lo tanto, aumentar la tasa de preñez es el objetivo principal para una mayor rentabilidad en los sistemas de producción de bovinos de leche y carne (Lynch et al., 2010). El ciclo estral representa el patrón cíclico de la actividad ovárica que facilita que las hembras pasen de un periodo de no receptividad a receptividad reproductiva, el cual permite el apareamiento y posteriormente el establecimiento de una nueva gestación (Forde et al., 2011); para mayor eficiencia y beneficio económico en un hato se espera que el inicio a la ciclicidad ovárica sea antes del día 45 posparto, debido a que la presentación de ciclos estrales en la lactancia temprana son asociados con salud uterina y mayor porcentaje de preñez (Galvão et al., 2010).

En vacas Holstein la tasa de concepción está entre el 35 al 45% aunque la tasa de fertilización puede ser mayor al 83% (Walsh et al., 2011), lo cual indica que existe un porcentaje de mortalidad embrionaria (ME) (Santos et al., 2004). La ME, es definida como la pérdida del embrión ocurrida entre la fertilización y al final del periodo de la diferenciación de los sistemas de órganos, aproximadamente en el día 42 de la gestación cuando termina el periodo embrionario (Comité Internacional de Nomenclatura Reproductiva, 1992).

La ME implica pérdidas económicas en las industrias lecheras, dado que afecta el intervalo entre partos y el número de terneros nacidos al año. Esta se clasifica en ME temprana que ocurre antes del reconocimiento materno de la gestación (<15-17 días post-IA) y ME embrionaria tardía que sucede después de este evento fisiológico hasta la diferenciación de los sistemas de órganos, aproximadamente al día 42 después de la IA (Santos et al., 2004).

Varias investigaciones indican que la ME es mayor (hasta un 20%) en las vacas para producción de leche en comparación con lo que ocurre en novillas y vacas de menor rendimiento (Diskin et al., 2006). Probablemente se debe a que las vacas que producen altos volúmenes de leche, tienen un gran consumo de alimento y mayor metabolismo de la P4 (Wolfenson et al., 2004). La ME puede ser de origen multifactorial y se sugiere que probablemente un porcentaje se atribuye a un ambiente uterino subóptimo como

consecuencia de niveles bajos de P4, los cuales pueden estar mediados a través de una inadecuada función luteal y folicular.

Muchos aspectos del crecimiento folicular ovárico en vacas son similares a los observados en novillas. Sin embargo, existen diferencias específicas que pueden estar vinculadas con los cambios en la fisiología reproductiva en vacas de alta producción de leche; esto incluye la ovulación de folículos que son más grandes que el tamaño óptimo (Wiltbank et al., 2011).

El efecto del tamaño del FO en la fertilidad ha sido objeto de investigación en las últimas dos décadas, debido a las mediciones precisas de diámetros de FO utilizando ultrasonografía transrectal (Wiltbank et al., 2011). Algunos estudios indican que la probabilidad de concepción tiene relación con el tamaño del FO (Vasconcelos et al., 1999), aunque los resultados han sido variados y contradictorios. Algunos autores indican que existe un rango óptimo de tamaño folicular en el que se puede llegar a altas tasas de gestación (Filho et al., 2010; Lopes et al., 2007; Machado et al., 2012; Perry et al., 2007) otros estudios sugieren que no existe asociación del diámetro del FO, tamaño del CL, niveles séricos de P4 y porcentajes de preñez (Lynch et al., 2010; Pfeifer et al., 2009).

Dada la amplia variación de los anteriores resultados y que probablemente se debe a que se han realizado en diferentes países, varias razas y que además existen factores propios de cada individuo, bien sean, genéticos, medioambientales y nutricionales, que pueden influenciar y hacer variar la fisiología reproductiva de la vaca; se hace necesario evaluar el diámetro del FO, volumen del CL, niveles séricos de P4 y establecer su posible relación en el ciclo estral y gestación temprana bajo las condiciones medioambientales específicas del trópico alto Colombiano, temperatura (13°C) y humedad (80 – 85%). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del diámetro del FO, volumen del CL y niveles séricos de P4, durante el ciclo estral y la gestación temprana en vacas Holstein en Bogotá.

En Colombia, se han realizado pocas investigaciones al respecto, por esta razón es importante realizar una en la cual se evalúe éstas características bajo condiciones fisiológicas en la raza Holstein que es una de las razas de mayor producción de leche. Por lo anterior se contribuiría con resultados que sirvan para la realización de futuras investigaciones, también para la comprensión de los eventos fisiológicos reproductivos y

mejoramiento de la eficiencia reproductiva de las vacas Holstein en el trópico alto Colombiano.

2.2 Materiales y Métodos

2.2.1 Localización

El trabajo experimental se realizó en el Centro Agropecuario Marengo de la Universidad Nacional de Colombia (Figura 2-1), ubicado en el km 12 vía Bogotá-Mosquera, a 4° 42' de latitud norte y 74° 12' de longitud oeste, con una altitud de 2650 msnm y temperatura promedio de 13°C, con fluctuaciones entre 4°C y 20°C, una humedad relativa de 80% a 85% y la precipitación anual promedio de 528,9 mm, con distribución bimodal del período lluvioso; uno entre los meses de abril y mayo y el otro desde septiembre hasta noviembre (González et al., 1997).

Figura 2-1: Ubicación geográfica del Centro Agropecuario Marengo



Hato de ganadería de leche del Centro Agropecuario Marengo ubicado en el departamento de Cundinamarca (González et al., 1997); www.portalterritorial.gov.co/dir_cundinamarca.shtml.

2.2.2 Criterios de Inclusión: Animales

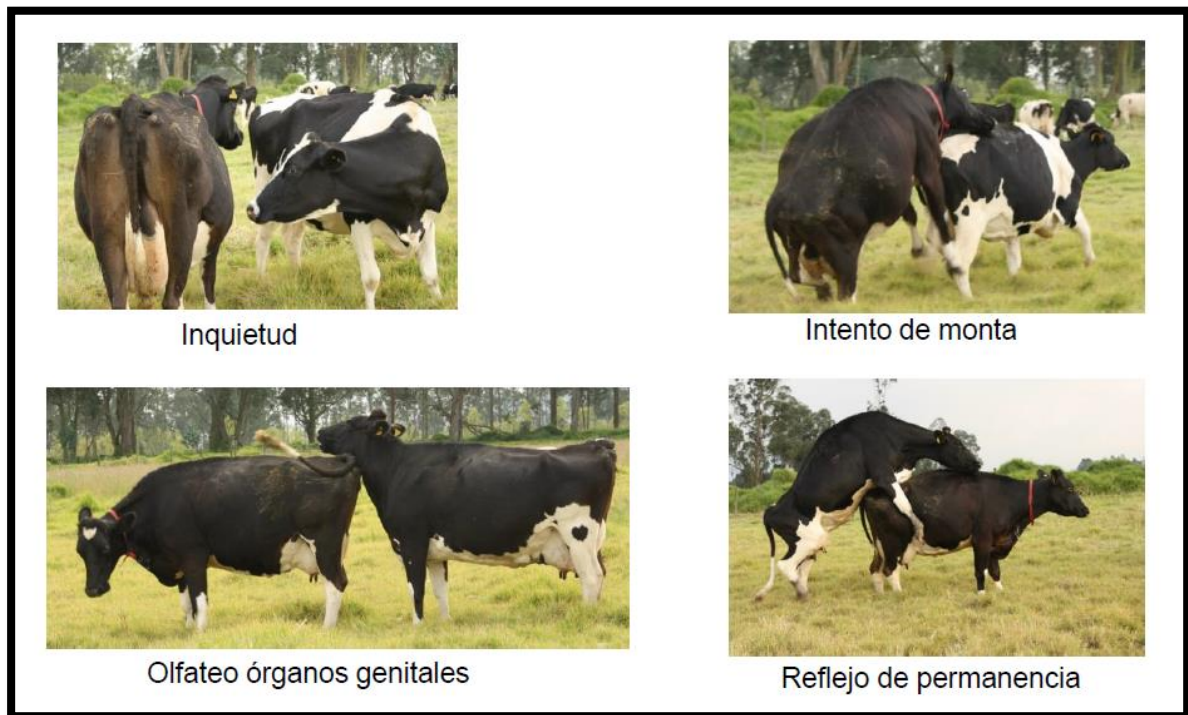
Se utilizaron 20 vacas Holstein entre 2 a 6 partos, con condición corporal > 2.5 (1=delgada, 5=obesa) al finalizar el periodo voluntario de espera (50 días posparto); estas hembras permanecieron bajo las mismas condiciones del hato en producción, las cuales fueron, pastoreo con praderas constituidas principalmente por pasto Kikuyo (*Penisetum clandestinum*), agua a voluntad, y se suplementaron con ensilaje de maíz, sal mineralizada y concentrado en razón de 1 Kg por cada 4 litros de leche, cuando la producción superaba la base forrajera calculada en 10 litros.

Las vacas se encontraron con buenas condiciones sanitarias, con el plan vacunal vigente (Brucelosis y Fiebre aftosa). Al iniciar el experimento solamente se seleccionaron las hembras que no presentaron patologías clínicas reproductivas como por ejemplo metritis, endometritis, quistes foliculares o luteales entre otros, lo cual se determinó por medio de la inspección visual de los órganos reproductivos externos, palpación rectal, ultrasonografía y vaginoscopía.

Desde el día 10 posparto se realizaron palpaciones rectales y ultrasonografía a cada una de las hembras con el fin de determinar el inicio del restablecimiento de la ciclicidad ovárica, presentación de al menos un ciclo estral regular y ausencia de patologías reproductivas. Una vez se cumplió con los anteriores parámetros se dio inicio a la evaluación del experimento a partir del día 40 postparto y se realizó mediante identificación de celos, palpaciones rectales, ecografías, y toma de muestras sanguíneas por venopunción de la vena caudal para evaluar niveles séricos de P4.

2.2.3 Detección de estros

La detección de estros se realizó por el método de observación visual y por el mismo operario durante todo el experimento, cuatro veces al día, de 6 a 7 am, 12 a 1 pm, 5:30 a 6:30 pm y de 9 a 10 pm. Se consideró como indicio de celo cuando una vaca presentó signos como inquietud, intento de monta a otras hembras, lamido y olfateo de los genitales externos o presencia de moco; el inicio del celo fue definido como la permanencia de un animal para ser montado por otro u otros durante algunos segundos y en varias ocasiones, conducta denominada monta estática (Palmer et al., 2012).

Figura 2-2: Signos de presentación de celo en vacas Holstein

Unidad de Bovinos Centro Agropecuario Marengo

2.2.4 Palpación rectal y ultrasonografía

La ultrasonografía del tracto reproductivo se realizó con un ecógrafo marca Pie-medical Aquila Pro Vet, fabricado por Esaote, equipado con un transductor rectal lineal de 7.5 MHz. El tamaño de las estructuras ováricas (folículos y CL) se calculó de acuerdo con una medida perpendicular observada en una imagen obtenida en la ecografía.

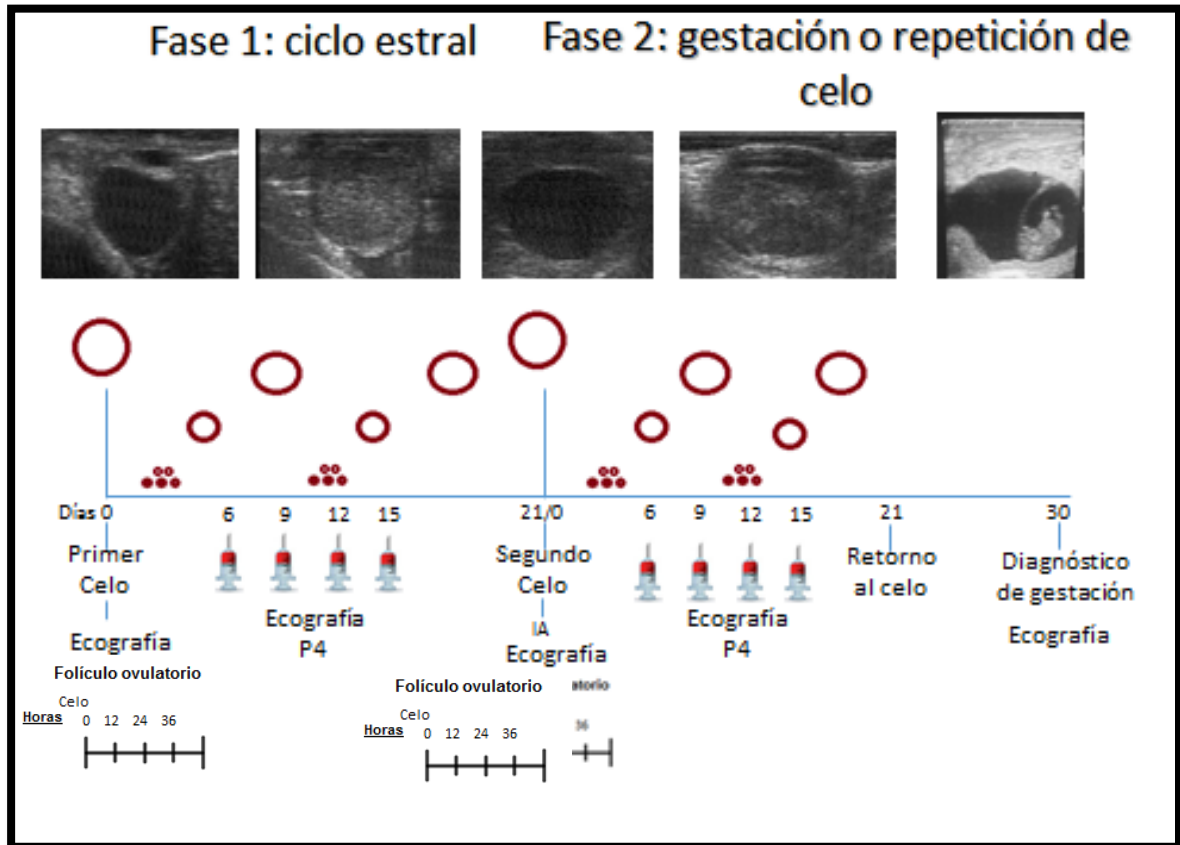
A partir del día 40 postparto se analizaron dos fases consecutivas, la primera fase correspondió al ciclo estral y fue definida como el lapso que transcurrió entre la presentación del primer (día 0 del ciclo) y segundo celo (IA); la segunda fase correspondió a la gestación temprana o repetición de celo, y fue definida como el lapso que transcurrió entre la presentación del segundo celo (día 0 del ciclo; y manifestación de celo que se tuvo en cuenta para realizar IA) y la confirmación de la gestación el día 30 ó la repetición del celo.

En las dos fases consecutivas evaluadas, una vez detectado el celo en las vacas se inició el examen ecográfico con el fin de determinar el diámetro máximo en mm del FO (folículo observado a la US desde la manifestación de celo hasta la ovulación) y posteriormente se repitió cada 12 horas hasta confirmar la ovulación, definida como la desaparición del FO y la subsiguiente aparición de un CL; el mayor diámetro del FO observado fue el que se tuvo en cuenta para realizar el respectivo análisis. La tasa de crecimiento del folículo dominante se calculó mediante la fórmula: diámetro folicular máximo alcanzado, por el folículo, menos el diámetro folicular inicial el día de su detección, dividido por el intervalo de días (Paredes et al., 2012). Además se realizaron mediciones ultrasonográficas tres veces a la semana (lunes, miércoles y viernes), después del ordeño de la mañana hasta finalizar el experimento; teniendo en cuenta esta información, se ordenaron o normalizaron los datos a partir del día en que fue diagnosticado el celo en los animales, y para realizar la comparación de las dos fases consecutivas en cuanto a las diferentes variables evaluadas, se tuvo en cuenta los días 6, 9, 12 y 15, de cada fase.

Adicionalmente se evaluó el diámetro del CL en mm y de acuerdo con esta medida se calculó su volumen. Para ello, se empleó la fórmula $\frac{4}{3} \times \pi \times r^3$, en la que el valor de π (3,1416) es una constante y r correspondió al radio (diámetro dividido en 2) del tamaño del CL. En los CL cavitarios, el volumen de la cavidad se calculó con la misma fórmula; del volumen del tejido luteal se restó el de la cavidad y de esta forma se obtuvo el volumen del CL. Se consideró CL funcional cuando los niveles séricos de P4 en el día 6 posterior al celo fueron mayores a 1 ng/ml (Lynch et al., 2010).

La gestación se diagnosticó en el día 30 post IA, posteriormente se confirmó en los días 40 y 60 con el fin de determinar ME; una vaca se consideró gestante cuando se observó presencia de líquido amniótico y un embrión con latido cardíaco (Lynch et al., 2010).

Figura 2.3: Esquema del seguimiento folicular, luteal y toma de muestras sanguíneas, durante la primera y segunda fase en vacas Holstein.



Progesterona (P4), Inseminación artificial (IA)

2.2.5 Muestras de sangre y análisis hormonal:

Se analizaron los niveles séricos de P4 de los días 6, 9, 12 y 15 de las dos fases consecutivas. Las muestras de sangre se obtuvieron de la vena coccígea en tubo sin anticoagulante y con aguja vacutainer. La sangre se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos para separar el suero de los elementos formes, el suero se almacenó en viales y se congeló a -70°C. Posteriormente se realizó la cuantificación de los niveles séricos de P4 por la técnica de ELISA con un kit “DS-EIA-Steroid-progesterone”, RH-351, Italia. Los niveles séricos de P4 fueron adaptados al ensayo mediante la estandarización de la curva, teniendo en cuenta lo reportado por la literatura en bovinos. Las muestras sanguíneas tomadas en una vaca el día de presentación del celo y en otra vaca el día de la confirmación de la gestación (día 30 post-IA), se utilizaron como control negativo y positivo

respectivamente. El ensayo conto con un límite inferior de sensibilidad de 0,1 ng/ml y un coeficiente de variación inter- ensayo e intraensayo de 4,2 y 3,6 respectivamente.

2.2.6 Análisis estadístico

Para los análisis estadísticos de las dos fases consecutivas, los datos se normalizaron a partir de la manifestación de celo en las vacas (día 0), posteriormente se tuvo en cuenta los días: 6, 9, 12 y 15 de cada fase. La información obtenida de cada una de las variables inicialmente se analizó utilizando estadística descriptiva con valores promedio y desviación estándar (DE) y comparación de promedios mediante la prueba t de student (Martínez et al., 2011).

Posteriormente se utilizó el modelo general lineal de medidas repetidas, en donde las medidas repetidas fueron los días 6, 9, 12 y 15, y las variables respuestas fueron: niveles séricos de P4 y volumen del CL. La presencia de diferencias significativas entre los niveles se analizó con la prueba de polinomios ortogonales y se evaluó normalidad de acuerdo a la prueba de Scheffe (Martínez et al., 2011).

La relación de las variables continuas independientes: volumen del CL, diámetro del FO, intervalo del inicio del celo a la ovulación, intervalo del inicio del celo a la IA, niveles séricos de P4, sobre el estado reproductivo (gestante, no gestante) al día 30 después de la IA, se determinó mediante regresión logística binaria. La fortaleza de la asociación se estimó a través del cálculo de odds ratio (OR). Para determinar la relación del diámetro del FO, volumen luteal y niveles séricos de P4 en cada ciclo, se utilizó análisis de regresión lineal. Todo valor $p < 0.05$ fue considerado significativo. Todos los procedimientos fueron realizados con el programa SAS 9.3 (SAS 2002 Institute, Cary, NC, USA) y SPSS® versión 22.

2.3 Resultados

Inicialmente se utilizaron 20 vacas Holstein pero una vaca que presentó endometritis durante el seguimiento de las dos fases consecutivas se excluyó del análisis. Las vacas presentaron una condición corporal al parto en promedio de 3.09 ± 0.25 (1=delgada,

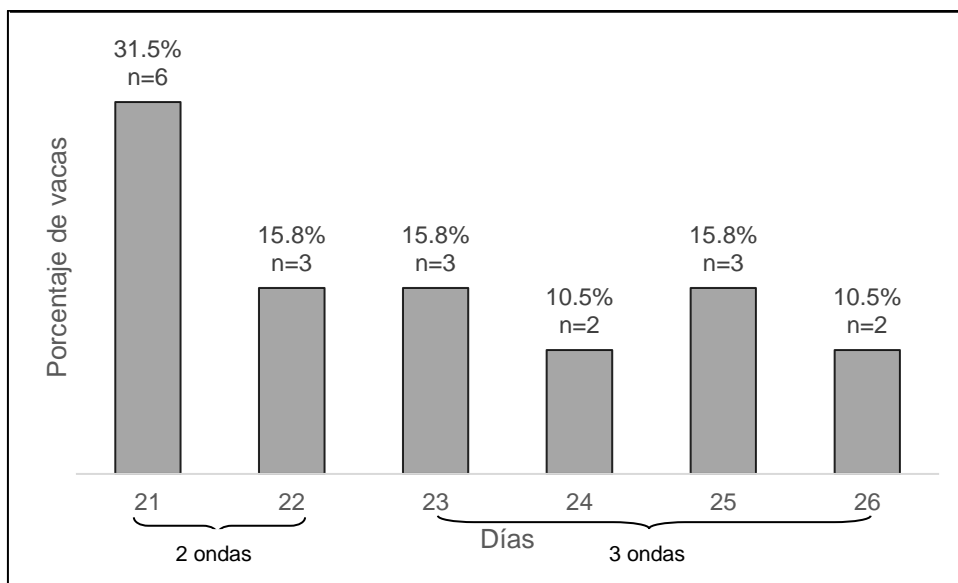
5=obesa), y cuando terminó el periodo voluntario de espera (50 días posparto), presentaron un peso promedio de 573.25 ± 32.3 Kg y una condición corporal de 2.7 ± 0.23 .

En el día 10 postparto se observó en todas las hembras la presencia de un folículo dominante con diámetro promedio de 15.06 ± 2.24 mm, de los cuales el 57.9% (10/19) presentaron un diámetro promedio de 16 mm y posteriormente se observó la presencia de un cuerpo lúteo en promedio al día 14.7; y el 42.1% (9/10) presentaron un diámetro promedio de 13.8 mm presentando posteriormente regresión, sin embargo el primer CL observado fue en promedio al día 25.9. De esta manera el tiempo transcurrido entre el parto y la primera ovulación postparto en todos los animales fue en promedio al día 19.63 ± 6.36 días.

2.3.1 Seguimiento de la primera fase: ciclo estral

Una vez se confirmó la ciclicidad reproductiva en los animales, se inició el seguimiento del primer ciclo estral en promedio en el día 61.36 ± 26.7 posparto y la duración de este ciclo fue de 22.94 ± 1.8 días (promedio \pm DE) con un rango entre 21 a 26 días. El 47.36% (9/19) de los animales presentaron 2 ondas de crecimiento folicular, de los cuales el 66.6% (6/9) tuvieron una duración del ciclo estral de 21 días y el 33.3% (3/9) de 22 días. El 52.63% (10/19) de las vacas presentaron 3 ondas de crecimiento folicular de las cuales el 30% (3/10) evidenciaron duración del ciclo estral de 23 días, el 20% (2/10) de 24 días, el 30% (3/10) de 25 días y el 20% (2/10) de 26 días (Figura 2).

Figura 2-4: Distribución de la duración del ciclo estral en vacas Hostein posparto.



n=19

Se detectó el celo al 100% de los animales y se realizaron mediciones del folículo preovulatorio cada 12 hrs una vez detectado el celo hasta confirmar la ovulación. No hubo diferencias significativas en el diámetro del FO, cuando se compararon los animales que presentaron 2 ondas de crecimiento folicular, con aquellos de 3 ondas de crecimiento folicular ($p>0.05$); datos presentados en la Tabla 2-1. El tiempo transcurrido entre el inicio del celo y la ovulación fue en promedio de 27.66 ± 6.32 hrs para las vacas de 2 ondas foliculares y similarmente de 28 ± 6 hrs para las vacas de 3 ondas ($p>0.05$), con un rango entre 21 a 36 hrs.

Tabla 2-1: Comparación de los valores (promedio \pm desviación estándar) de diámetro de folículo ovulatorio (mm), volumen del CL (mm³), concentración sérica de P4 (ng/ml), tiempo transcurrido desde el inicio del celo hasta la ovulación, en animales de 2 y 3 ondas de crecimiento folicular en el primer ciclo.

Variable	Dos ondas (n=9)	Tres ondas (n=10)	Valor de p
Folículo ovulatorio (mm)	19.87 \pm 2.8	19.83 \pm 2.8	0.97
Tiempo transcurrido desde el inicio del celo hasta la ovulación (hrs)	27.66 \pm 6.3	28.00 \pm 6.0	0.91
P4 (ng/ml)			
día 6	4.30 \pm 0.9	4.97 \pm 0.8	0.13
día 9	6.07 \pm 0.5	6.08 \pm 0.6	0.96
día 12	6.43 \pm 0.4	6.52 \pm 0.3	0.65
día 15	6.53 \pm 0.3	6.54 \pm 0.3	0.92
Volumen CL (mm ³)			
día 6	7766.89 \pm 1985.4	8902.86 \pm 2863.5	0.34
día 9	11629.68 \pm 2527.6	14736.05 \pm 4225.1	0.07
día 12	13800.08 \pm 2788.7	16343.88 \pm 3579.1	0.11
día 15	13814.98 \pm 2655.2	16342.83 \pm 3542.1	0.10

Folículo ovulatorio, Cuerpo lúteo (CL) y progesterona (P4)

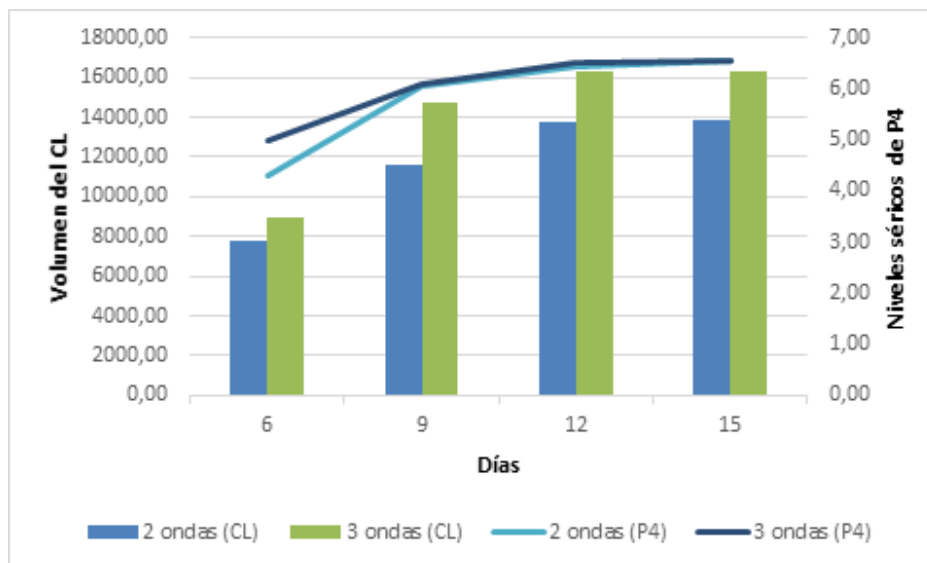
*Todo valor p < 0.05 se consideró como estadísticamente significativo.

** Los valores reportados corresponden al promedio \pm la desviación estándar

Luego de la ovulación se continuó con la evaluación del crecimiento luteal. En los días 12 y 15 se observó el mayor tamaño del CL, para el día 12 se observó un volumen promedio de 13800 \pm 2788.72 mm³ para las vacas de 2 ondas de crecimiento folicular y de 16343.88 \pm 3579.05 mm³ para las de 3 ondas, similarmente el día 15 se observó un volumen luteal en promedio de 13814.98 \pm 2655.17 mm³ para las vacas de 2 ondas y de 16342.83 \pm

3542.1 mm³ para las de 3 ondas, y no hubo diferencias significativas. Los niveles séricos de P4 a partir del día 6 del ciclo estral fueron > 3 ng/ml y en los día 12 se encontraron los mayores niveles, para las vacas de 2 ondas foliculares 6.43 ± 0.46 ng/ml y similarmente para las de 3 ondas 6.52 ± 0.32 ng/ml (Tabla 2-1; Figura 2-3).

Figura 2-5: Concentraciones séricas de progesterona y volumen del cuerpo lúteo durante los días 6, 9, 12 y 15 del ciclo estral en vacas Holstein de 2 y 3 ondas de crecimiento folicular.



Cuerpo lúteo (CL), progesterona (P4)

n=19

2.3.2 Seguimiento de la segunda fase: Vacas gestantes y no gestantes

El segundo ciclo comenzó cuando se detectó el segundo celo al 100% de las vacas y fueron inseminadas 12.8 ± 1.8 hrs después de iniciado el celo, en promedio a los 89.4 ± 34.7 días en leche; con una producción promedio de 24.4 ± 4.9 Lts (rango de 16.4 a 32.7 Lts). El día 30 post-IA se evaluó el estado reproductivo y se diagnosticaron el 47.36% como

hembras gestantes (9/19), y el 52.63% (10/19) como no gestantes. Posteriormente se compararon y como se muestra en la Tabla 2-2, las vacas gestantes presentaron diámetros de FO (17.85 ± 2.39 mm) significativamente menores ($p < 0.05$) comparados con las no gestantes (21.10 ± 2.86 mm). La tasa de crecimiento del folículo dominante de la onda ovulatoria en la última onda de crecimiento folicular fue en promedio de $1.57\text{mm} \pm 0.52$ para gestantes y similarmente de 1.63 ± 0.38 para no gestantes; no hubo diferencias significativas en las otras variables evaluadas ($p > 0.05$).

Tabla 2-2: Comparación de los valores (promedio \pm desviación estandar) de diámetro de folículo ovulatorio (mm), volumen del CL (mm³), concentración sérica de P4 (ng/ml), tiempo transcurrido desde el inicio del celo hasta la ovulación, en animales gestantes y no gestantes.

Variable	Gestantes Promedio \pm DE	No gestantes Promedio \pm DE	Valor de p
Folículo ovulatorio (mm)	17.85 \pm 2.3	21.10 \pm 2.8	0.01*
Tiempo transcurrido desde el inicio del celo hasta la ovulación (hrs)	30.00 \pm 7.3	28.00 \pm 6.0	0.53
Tiempo transcurrido desde la IA hasta la ovulación (hrs)	17.33 \pm 6.3	16.00 \pm 6.0	0.65
P4 (ng/ml)			
día 6	4.08 \pm 1.1	4.51 \pm 0.6	0.35
día 9	6.05 \pm 0.4	6.21 \pm 0.4	0.47
día 12	6.48 \pm 0.3	6.58 \pm 0.4	0.62
día 15	6.65 \pm 0.3	6.67 \pm 0.4	0.93
Volumen CL (mm³)			
día 6	7325.57 \pm 1891.6	7207.45 \pm 1978.7	0.89
día 9	10353.88 \pm 2688.7	11926.27 \pm 2200.1	0.19
día 12	12487.43 \pm 2988.2	15518.63 \pm 3656.0	0.07
día 15	12524.88 \pm 2959.5	14935.41 \pm 3599.4	0.14

Folículo ovulatorio, Cuerpo lúteo (CL), progesterona (P4), inseminación artificial (IA), ultrasonografía (US).

*Todo valor p < 0.05 se consideró como estadísticamente significativo.

** Los valores reportados corresponden al promedio \pm la desviación estándar

No obstante al evaluar las vacas no gestantes (10/19) se encontraron hembras con retorno normal al estro (5/10) y otras con retorno tardío (5/10). Las hembras con retorno normal al celo fueron aquellas que la duración en días del segundo ciclo (22.6 ± 1.5 días) fue similar a la del primer ciclo (23 ± 1.4 días), además el número de ondas fue igual en los dos ciclos; y las vacas con retorno tardío el número de ondas de crecimiento folicular y la duración en días del segundo ciclo (33.4 ± 7.7 días) fue mayor a la del primer ciclo (23.6 ± 2.7).

Tabla 2-3: Comparación del promedio del diámetro del folículo ovulatorio y duración de la primera y segunda fase en vacas de retorno normal y tardío al celo.

Estado reproductivo	Variable	Primera Fase	Segunda Fase
Retorno normal al celo	Duración (días)	23 ± 1.4	22.6 ± 1.5
	Folículo ovulatorio (mm)	21.38 ± 2.6	19.72 ± 2.7
Retorno tardío al celo	Duración (días)	23.6 ± 2.7	33.4 ± 7.7
	Folículo ovulatorio (mm)	19.74 ± 2	22.46 ± 2.02

Además las hembras con retorno normal al estro presentaron diámetros menores de FO en la segunda fase (fase en la cual se realizó IA) (19.72 ± 2.76 mm) comparado con el primer ciclo (21.38 ± 2.6 mm) en contraste con estos resultados las vacas de retorno tardío

presentaron diámetros de FO mayores en el segundo ciclo ($22.46 \pm 2.02\text{mm}$) comparado con el primero ($19.74 \pm 2\text{mm}$).

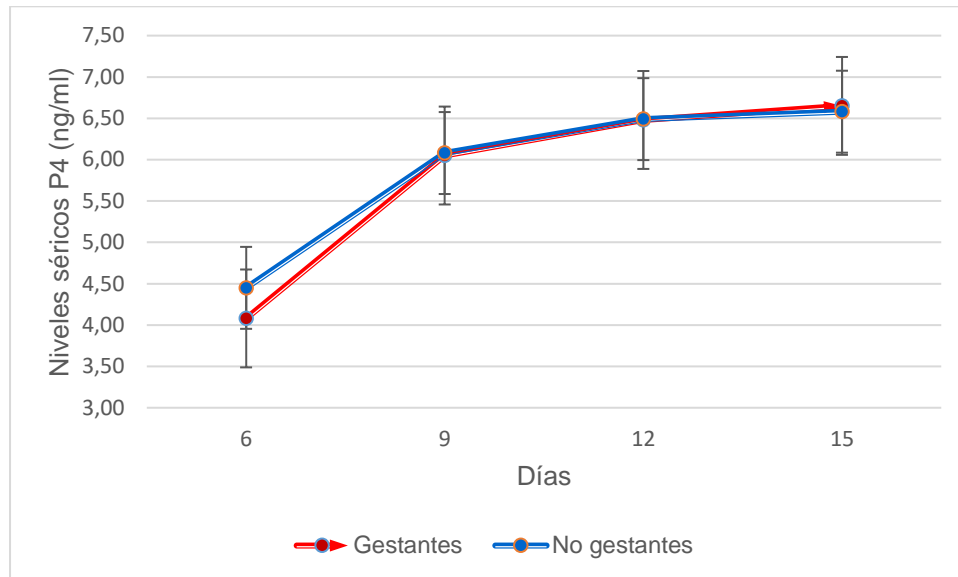
2.3.3 Asociación entre los niveles séricos de P4, volumen del CL, y el diámetro del folículo ovulatorio

Luego de comparar los animales gestantes y no gestantes en cuanto al diámetro del FO, volumen del CL y niveles séricos de P4, se evaluó la relación entre estas variables. En la primera y segunda fase se encontró relación lineal entre el diámetro del FO y el volumen del CL ($p < 0.05$). Adicionalmente en la primera fase hubo relación lineal entre el volumen del CL y los niveles séricos de P4 ($p < 0.05$), sin embargo en la segunda fase no se encontró esta relación ($p > 0.05$).

Por otro lado, de acuerdo con los resultados del modelo de medidas repetidas, se determinó que los promedios de los volúmenes del CL y los niveles séricos de P4 fueron significativamente diferentes ($P = 0.000$) a través del tiempo (días 6, 9, 12 y 15) y esta relación fue lineal ($P = 0.000$) y cuadrática ($P = 0.000$).

2.3.4 Asociación del diámetro del folículo ovulatorio, volumen del CL, niveles séricos de P4, con la gestación temprana

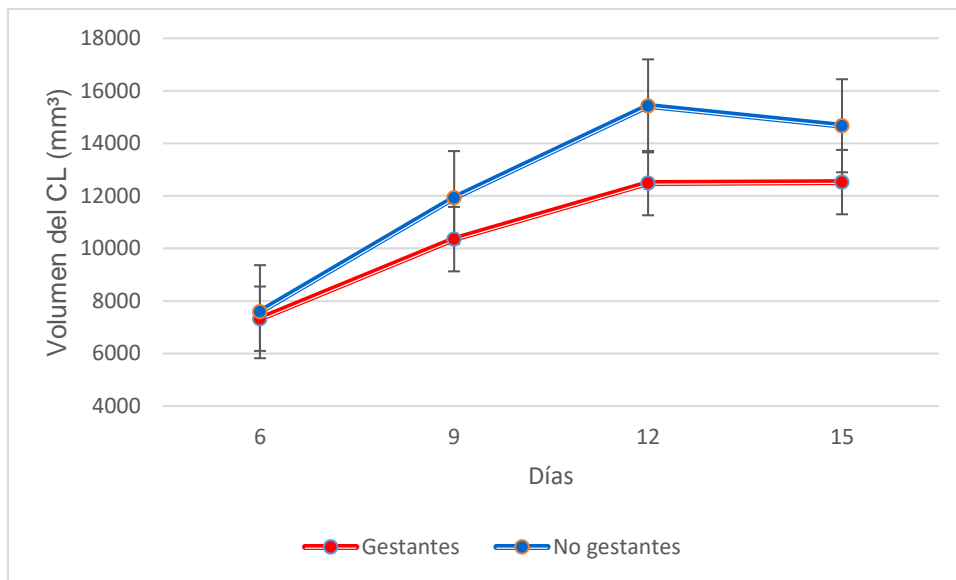
La P4 no fue un factor asociado a la gestación temprana ($p > 0.05$); razón por la cual en la segunda fase no se encontraron diferencias significativas en los niveles de esta hormona en vacas gestantes y no gestantes. En el día 6 del ciclo se observaron niveles de P4 en promedio de 4.08 ± 1.1 ng/ml para el grupo de gestantes, y de 4.51 ± 0.6 ng/ml para las no gestantes y los mayores niveles séricos de P4 se encontraron en el día 12 con niveles de 6.48 ± 0.3 ng/ml para gestantes, y de 6.58 ± 0.4 ng/ml para las no gestantes; similarmente en el día 15 se encontraron niveles en promedio de 6.65 ± 0.3 ng/ml para gestantes y de 6.67 ± 0.4 ng/ml para las no gestantes (Figura 2-6).

Figura 2-6: Niveles séricos de P4 (ng/ml) en vacas gestantes y no gestantes

Progesterona (P4)

Igualmente el volumen del CL no fue un factor asociado a la gestación temprana ($p > 0.05$); y no hubo diferencias significativas en el volumen luteal en vacas gestantes y no gestantes ($p = 0.10$), (Figura 2-5); independientemente del tamaño y del estado reproductivo, los CL de estos animales produjeron similares niveles séricos de P4.

Figura 2-7: Volumen del CL (mm³) en vacas gestantes y no gestantes



Cuerpo lúteo (CL)

Posteriormente al evaluar cuáles de las anteriores variables (diámetro del FO, volumen CL, P4, de la segunda fase) fueron asociadas a la gestación, se encontró que solamente el menor diámetro del FO (18.1 mm) fue un factor asociado a la gestación temprana (OR=1.65, IC 95% (1.039-2.619) ($p < 0.05$), (Tabla 2-3); es decir que por cada mm que disminuya el FO hay 1.65 veces más probabilidad de que quede gestante, y entre mayor diámetro tenga el FO menor probabilidad de gestación.

Tabla 2-4: Asociación entre el diámetro del folículo ovulatorio, volumen del CL y niveles séricos de P4 de la segunda fase y la gestación al día 30 post-IA

Variable	Odds ratio	95% de intervalo de confianza	Valor de p
Folículo ovulatorio	1.65	1.039 - 2.619	0.034
CL día 6	1.0	1.000 - 1.001	0.769
P4 día 6	1.62	0.543 - 4.822	0.38

Cuerpo lúteo (CL), progesterona (P4).

2.4 Discusión

En este estudio se observó que todas las vacas tuvieron un folículo dominante al día 10 posparto, de los cuales el 57.9% de los folículos posteriormente ovularon observándose un CL en promedio al día 14.7; y el 42.1% (9/10) de los folículos presentaron posteriormente regresión, sin embargo, en este grupo el primer CL observado fue en promedio al día 25.9; es decir, que las vacas reanudaron con prontitud la secreción de las hormonas GnRH, FSH y LH posparto, entre otros mecanismos fisiológicos; además que en la mayoría de las hembras el folículo dominante de la primera onda folicular posparto, presentó todas las condiciones morfológicas y fisiológicas necesarias para producir los niveles de estrógenos requeridos para desencadenar el pico preovulatorio de LH y posteriormente la ovulación.

De acuerdo con Beam y Butler. (1997), el fracaso de la ovulación del primer folículo dominante posparto fue debido a bajos niveles de estradiol como resultado de un diámetro

folicular pequeño, de esta manera las vacas que no ovularon este folículo, presentaron niveles de estradiol significativamente menores durante el crecimiento temprano de este (días 8-14), y también en los niveles máximos alcanzados antes de la atresia, indicando que la estereidogenesis durante la selección temprana del folículo y la dominancia, refleja la posterior competencia ovulatoria. Algunos autores también sugieren que el retraso en la primera ovulación puede presentarse como consecuencia del balance energético negativo debido a que posiblemente algunos de estos animales, tienen menores niveles del factor de crecimiento insulínico (IGF-I) (importante estimulador de la estereidogénesis) y de la hormona luteinizante (LH), los cuales actúan sinérgicamente con otras moléculas para estimular el desarrollo folicular ovárico temprano (Beam y Butler, 1997; Kumar et al., 2004; Lucy et al., 1991).

Sin embargo, aunque el 40% de las vacas de este estudio no ovularon el primer folículo dominante, estas vacas reanudaron la ciclicidad ovárica con prontitud, debido a que el tiempo transcurrido entre el parto y la primera ovulación de todos los animales fue en promedio de 19.6 ± 6.36 días, lo cual indicó reinicio temprano a la ciclicidad reproductiva; datos similares reportaron varias investigaciones, por ejemplo, Guáqueta et al. (2014) encontraron en vacas Holstein en Bogotá que la emergencia de la primera onda folicular posparto fue en promedio el día 10.1 ± 3.45 y el promedio de días para que ocurriera la primera ovulación fue de 21.55 ± 5.90 en las vacas con reactivación ovárica temprana, pero también encontraron vacas con reactivación ovárica tardía quienes presentaron la primera ovulación a los 48.7 ± 8.8 días, resultados que fueron asociados a la presentación de cojeras, o condiciones corporales ≤ 2.5 . Galvão et al. (2010), concluyeron que las vacas Holstein que presentaron la primera ovulación alrededor de los 21 días posparto, tuvieron mayor porcentaje de preñez en la primera IA, en comparación con las vacas que ciclaron en la lactancia tardía o las no cíclicas; la ciclicidad ovárica en la lactancia temprana se asoció con salud uterina y aumento del porcentaje de preñez. Kumar et al. (2004), indicaron que la reanudación ovárica cíclica normal ocurrió antes de los 45 días postparto en vacas de alta producción de leche, debido a que después de este día algunos casos son asociados a retraso en la primera ovulación después del parto, fases lúteas prolongadas entre otros (Kumar et al., 2004). En general las vacas que ovulan el primer folículo dominante antes del día 30 posparto tienen un intervalo corto entre el parto y la primera IA, por el contrario las vacas que evidencian intervalos prolongados anovulatorios tienen

un impacto negativo en la reactivación cíclica ovárica y en los parámetros reproductivos como los días abiertos o el intervalo entre partos. En el presente estudio la emergencia de ondas foliculares y la primera ovulación ocurrieron antes del día 30 posparto, indicando reanudación temprana a la ciclicidad reproductiva, probablemente debido a que las vacas fueron clínicamente sanas, no presentaron ninguna patología clínica reproductiva, por lo tanto se controló el mayor número de factores o condiciones que posiblemente alteraran los resultados fisiológicos.

En las vacas con reactivación ovárica temprana, una vez ocurren las primeras ovulaciones postparto se espera que posteriormente presenten ciclos estrales regulares con un rango de duración entre 18 a 24 días, y la duración depende del número de ondas de crecimiento folicular que tiene la vaca; en el presente estudio el ciclo estral de 2 ondas tuvo un promedio de duración de 21.33 ± 0.5 días y el de 3 ondas de 24.4 ± 1.17 días, datos que indican normalidad de acuerdo con lo establecido por varios autores (Martinez et al., 2016; Wolfenson et al., 2004) y similares a los datos reportados por Sakaguchi et al. (2004), que reportaron para los animales con 2 y 3 ondas duraciones de 21 ± 0.4 y 24.1 ± 1.1 días respectivamente.

Los mecanismos que regulan la presentación de 2, 3 o más ondas de crecimiento folicular no están totalmente dilucidados. En vacas, la predisposición genética, el estatus nutricional, o las condiciones ambientales que no son controlables, quizás tienen un importante rol en la regulación de la presentación de determinado número de ondas durante el ciclo estral (Noseir, 2003; Quezada et al., 2014). En este estudio se encontró que el 47.36% de las hembras presentaron 2 ondas de crecimiento folicular y el 52.63% 3 ondas, y no hubo diferencias significativas en el diámetro del folículo preovulatorio, tampoco en la dinámica luteal, y los niveles séricos de P4, probablemente las diferencias significativas se observarían cuando comienza la regresión luteal, en donde las vacas de 2 ondas inician primero la disminución de los niveles séricos de P4 comparado con las de 3 ondas. Carriquiry et al. (2009) no encontraron diferencias significativas en el diámetro máximo del CL ($p=0.30$) y en los mayores niveles séricos de P4 ($p=0.4$). Datos similares a los reportados por varios autores (Jaiswal et al., 2009; Kornmatitsuk, 2009; Noseir, 2003; Quezada et al., 2014).

Por otro lado Senger. (1994), Indicó que la limitante en la eficiencia reproductiva en un hato lechero es la incorrecta detección de celos que conlleva a un inapropiado tiempo de IA, y un diagnóstico erróneo de estros que resulta en una pérdida estimada anual por encima de los \$300 millones de dólares en las industrias lecheras en EE.UU. La detección tardía de celos afecta el tiempo óptimo de la IA lo cual puede conllevar a la ausencia de la fertilización y reducir el éxito de la gestación (Roelofs et al., 2006). Probablemente errores en la detección de celos no fueron factores que influyeron en los resultados de esta investigación debido a que el intervalo entre cada detección de celos fue corto, y la observación del reflejo de permanencia fue uno de los aspectos que se tuvo en cuenta para realizar los seguimientos de las dos fases consecutivas y también para la IA.

Después que se realizó la IA a cada una de las vacas, se evaluó el momento en el cual ocurrió la ovulación en las vacas gestantes y no gestantes, bajo condiciones fisiológicas sucede entre 25 y 36 hrs después de finalizado el estro, y en este estudio en la segunda fase (fase en la cual se realizó IA), tanto las vacas que finalmente se diagnosticaron gestantes como las no gestantes ovularon dentro del rango que indica normalidad y no se observaron diferencias significativas en este periodo (intervalo inicio del celo a la ovulación: 30 hrs para las vacas gestantes, 28 hrs para las no gestantes; $p>0.05$) adicionalmente se inseminaron en promedio 12.8 hrs después de iniciado el celo, y se obtuvo la mitad de la población gestante en la primera IA postparto; de acuerdo con Dalton et al. (2001) la IA 12 horas después del inicio del estro podría optimizar la fertilidad en la vaca lechera, mejorando la tasa de fertilización, el número de espermatozoides disponibles por embrión y la calidad de este.

Sin embargo, a pesar de realizar la IA correctamente y en el tiempo sugerido por otros autores (12 horas después de iniciada la conducta estral), existen fallas en la fertilización o ME que afectan el porcentaje de gestación. Santos et al. (2004), indicaron que la tasa de concepción en vacas de producción de leche generalmente es de 35 a 45% en los días 27 a 31 post-IA, a pesar de tener porcentajes de fertilización en promedio de 76.2% (rango de 55.3 a 87.8%). Lo cual indica que posiblemente hay un porcentaje de ME, y esta es una de las principales causas de ineficiencia reproductiva; en la actualidad se considera como un problema que causa importantes pérdidas económicas en las industrias ganaderas. La

etiología de la ME es diversa y dentro de las posibles causas se encuentra alteración de la viabilidad del oocito y del FO, insuficientes niveles séricos de P4, entre otros.

En el presente estudio las vacas no gestantes con retorno normal al celo, en las dos fases evaluadas tuvieron las mismas ondas de crecimiento folicular, similares días de duración y de promedios de diámetros de FO; las diferentes causas por las cuales no quedaron gestantes son inciertas y no se evaluaron mediante el presente estudio; a falta de estos datos varias hipótesis pueden ser propuestas. Es probable que en estas vacas no hubo fertilización y retornaron normalmente al siguiente celo, se puede decir también que hubo fertilización pero pudo presentarse ME antes del reconocimiento materno de la gestación, por lo tanto retornaron nuevamente al celo, con similar duración a la anterior fase (ciclo en el cual no se realizó IA) y con el mismo número de ondas de crecimiento folicular. También se encontraron vacas con retorno tardío al celo, este grupo de hembras se caracterizó porque en la segunda fase (fase en la cual se realizó IA) presentaron más ondas de crecimiento folicular y la duración fue mayor comparada con la primera; la segunda fase se prolongó más tiempo de lo normal con un rango de 25 días para una vaca de dos ondas y hasta 43 días para 4 vacas de 3 ondas de crecimiento folicular; probablemente en estos animales pudo ocurrir ME después del reconocimiento materno, prolongando la vida media del CL, producción de P4 y el retorno al celo. De acuerdo con Moor et al. (1969) y Moor y Rowson. (1966) la remoción del conceptus del útero en ovinos después del día 13 de la preñez extiende la vida media del CL entre 25 y 35 días. Quizás en la vaca de 2 ondas la ME se presentó tan pronto inició el reconocimiento materno (día 13), prolongando a 25 días la duración del ciclo; y en las 4 vacas restantes posiblemente la ME ocurrió después del reconocimiento materno de la gestación (día 16-17) prolongando el ciclo hasta 43 días. También es importante mencionar que en estas vacas se realizó ultrasonografía al día 30 post-IA y en algunas se observó CL persistente, y contenido o líquido anecogénico en los cuernos uterinos que posiblemente indica el resultado de la presencia previa de un embrión u otra hipótesis es que puede ser el resultado de una posible endometritis subclínica.

Adicionalmente es interesante que estas vacas (retorno tardío) presentaron FO más grandes que las de retorno normal al celo y las gestantes, lo que puede estar indicando que estos folículos al ser de mayor diámetro posiblemente tardaron más tiempo en su crecimiento o dominancia, y en alcanzar los niveles de estrógenos necesarios para desencadenar la conducta de celo y pasar a ser ovulatorios, de esta manera se pudo

estimular la secreción de LH antes de tiempo con lo que ocurriría maduración temprana de esos oocitos afectando la integridad de estos y resultando en ME.

De acuerdo con Mihm et al. (1994) la fertilidad depende de la duración del periodo de dominancia del FO, cuando el periodo de dominancia tuvo una duración entre 1 y 4 días se encontró una alta tasa de preñez, mientras que la dominancia mayor a 10 días fue asociada con la ausencia de preñez. Probablemente se debe a que el incremento en la producción de estradiol por un periodo largo de dominancia, quizás cambia el ambiente intrafolicular, (Hafez y Gordon, 1963) posiblemente influyendo en la integridad del oocito, y posterior a la ovulación no puede haber fertilización o pueden presentarse alteraciones en el desarrollo embrionario temprano conllevando a una ME. En particular el incremento lento de los pulsos y frecuencia de LH puede reanudar la meiosis del oocito antes de la onda ovulatoria de LH y en el momento de la ovulación y fertilización este será un oocito envejecido (Mattheij et al., 1994).

Colazo et al., (2015), encontraron en vacas lecheras, que el promedio de diámetro de FO fue de 16.4 ± 0.1 mm (rango de 11 a 25 mm; $n=1048$) y los diámetros más comunes fueron 15, 16 y 17 mm, aun así los FO de gran tamaño > 20 mm se relacionaron como predictores de pérdida de la gestación en vacas lactantes sometidas a protocolos de IATF.

En el presente estudio se encontró que el menor diámetro del FO fue un factor asociado a la gestación temprana, resultados similares a los encontrados por Vasconcelos et al. (1999) en vacas lecheras, los cuales indican que los FO más pequeños fueron subsecuentemente más fértiles que los de mayor tamaño, esto puede estar relacionado a la edad de estos folículos, posiblemente como se mencionó anteriormente los oocitos provenientes de FO de mayor tiempo de dominancia son de menor fertilidad. Perry et al. (2007) evaluaron la relación del diámetro del FO y el porcentaje de preñez en novillas, y para ello utilizaron protocolos de IATF; encontraron que los FO con diámetro menor a 10.7mm y mayor a 15.7mm tuvieron menor probabilidad ($P<0.05$) para el mantenimiento de la gestación comparado con los folículos de 12.8mm; estos autores sugieren que hay una relación entre el porcentaje máximo de gestación ($68 \pm 4.9\%$) y un tamaño folicular de 12.8mm, además que los FO menor a 10.7mm fueron más frecuentes (28% novillas) que los folículos mayor a 15.7mm (4%). Por el contrario, Lopes et al. (2007) encontraron que

el tamaño del FO fue mayor ($15.8 \pm 0.3\text{mm}$) en los animales que quedaron gestantes, asimismo las concentraciones de P4 sérica después del día 5 post-IA. Sin embargo, aunque hay varias investigaciones que concluyen que hay una relación entre el diámetro del FO y la gestación temprana, esto no está totalmente dilucidado y tampoco existe una explicación fisiológica al respecto; es necesario realizar investigaciones en las cuales se evalué no solamente la integridad del oocito en folículos de diferentes diámetros sino también diferentes hormonas reproductivas con el fin de encontrar una posible explicación a este evento.

Por otro lado, desde hace varios años se ha establecido que los niveles séricos de P4 están relacionados con la gestación temprana, debido a que es importante para el establecimiento de la gestación porque interviene en muchos mecanismos como por ejemplo aumenta el tamaño de las glándulas endometriales, y de las secreciones uterinas (Gonella et al., 2010) que son necesarias para el crecimiento del blastocisto, migración, implantación y activación del genoma.

Sin embargo, en esta investigación se encontró que las vacas gestantes y no gestantes presentaron similares niveles séricos de P4 en los primeros días del ciclo (días 6, 9, 12 y 15) y no fueron diferentes significativamente ($p > 0.05$). Probablemente tanto las vacas gestantes como no gestantes bajo condiciones fisiológicas están expuestas a los mismos cambios de la P4 durante los primeros días del ciclo, y no se observarían diferencias en cuanto a los niveles séricos de esta hormona porque después de la ovulación el nuevo CL va a ser funcional y secretará niveles crecientes de P4 con el fin de preparar al útero para una posible gestación independientemente del estado reproductivo al final del ciclo. Un segundo factor a considerar es que el embrión es autónomo e independiente del tracto reproductivo de la hembra en los primeros días del ciclo, y las diferencias significativas en los niveles séricos de esta hormona en vacas gestantes y no gestantes se esperarían durante el reconocimiento materno de la gestación, cuando las células del trofoblasto secretan interferón tau e inhiben la luteolisis y como resultado se mantiene los niveles séricos de P4 en la gestación; por el contrario en las no gestantes inicia la luteolisis y empezarán a disminuir drásticamente los niveles de esta hormona.

Estos resultados coinciden con los encontrados por Forde et al. (2011), quienes concluyeron que no hubo diferencias detectables en la expresión de genes en el

endometrio de novillas gestantes y cíclicas en los días 5, 7 y 13 post-estro; resultados que indican que para los primeros días del ciclo los cambios que ocurren en el transcriptoma del endometrio son independientes de la presencia de un conceptus hasta cuando hay el reconocimiento de la preñez; estos autores indican que solo en el reconocimiento materno de la preñez (a partir del día 16) se observan las diferencias en el transcriptoma del endometrio entre novillas cíclicas y gestantes. Además que durante toda la fase luteal del ciclo estral de novillas gestantes y cíclicas presentaron los mismos niveles hormonales; solamente las diferencias se observaron durante el reconocimiento materno de la gestación cuando el interferón tau proveniente del embrión impide la luteolisis y por lo tanto el sistema endocrino que regula la expresión génica endometrial difiere entre novillas cíclicas y gestantes.

Los resultados de este estudio difieren con los publicados por otros autores, por ejemplo Stronge et al. (2005) indicaron que existe una relación lineal y cuadrática entre los niveles de P4 en la leche los días 5, 6 y 7 y la gestación; además que existe un rango de concentración de P4 óptimo en el cual se llega a mayores porcentajes de gestación; y los bajos niveles de P4 durante los días 5 y 7 (después de la IA) fueron asociados con baja fertilidad en vacas lecheras.

Probablemente cuando las vacas se encuentran bajo condiciones normales no se observan diferencias significativas en los niveles de esta hormona en hembras gestantes y cíclicas antes del día 15 post-estro o antes de que ocurra el reconocimiento materno de la gestación; las diferencias se observarían después del día 15 cuando en las hembras gestantes, el interferón tau inhibe la luteolisis y el CL continua produciendo P4; por el contrario en las cíclicas los niveles de P4 disminuyen y posteriormente inicia un nuevo ciclo estral. Por otro lado, cuando se hace la comparación de los niveles de P4 en hembras gestantes con aquellas que presentan algún tipo de alteración o condición que puede influir en la secreción o niveles apropiados de esta hormona, sí se deberían observar diferencias significativas en los niveles séricos de P4 y encontrar asociación de determinado nivel de P4 en un día específico del ciclo con el éxito de la gestación, debido a que se identificaría los niveles de P4 normales que conducen a una gestación o niveles bajos que pueden interferir con la preñez.

En la presente investigación se evaluó la posible asociación entre los niveles séricos de P4, el volumen del CL, y el diámetro del FO; y se encontró en la primera y segunda fase una relación lineal entre el diámetro del FO y el volumen del CL ($p=0.01$). Probablemente se debe a que el tamaño del FO, influencia el tamaño luteal y de esta forma su funcionamiento durante la fase luteal temprana. Vasconcelos et al. (2001), realizaron una investigación con el fin de confirmar la hipótesis que la reducción del tamaño del FO podía alterar el subsecuente tamaño del CL, encontrando que el volumen del CL en el día 7 o 14 fue significativamente correlacionado con el tamaño folicular; y la ovulación de pequeños folículos conlleva a la formación de CL pequeños. Un estudio previo en ovejas demostró que la inducción prematura de la ovulación con GnRH reduce subsecuentemente el tamaño luteal y el número de células luteales; esta investigación encontró una reducción en el número de células de la granulosa y tecales, en el FO que fue inducido a ovular prematuramente (Murdoch & Van Kirk, 1998).

Por otra parte en la primera fase se observó una relación lineal entre el volumen del CL y los niveles séricos de P4 ($p=0.01$) pero en la segunda fase no se encontró esta asociación, de esta manera se puede decir que probablemente no existe relación y los niveles de P4 están relacionados por mecanismos fisiológicos diferentes al volumen luteal. Además que no necesariamente el CL de mayor volumen produce más P4, seguramente hay un tamaño y un determinado número de células luteales activas a partir del cual se produce la P4 necesaria y óptima para las diferentes funciones reproductivas. Lynch et al. (2010) no encontraron relación entre el tamaño folicular, el volumen del CL y la secreción de P4, estos autores indican que el uso de GnRH en protocolos de IATF puede conllevar a la ovulación de folículos inmaduros afectando la fertilidad y función luteal pero no el tamaño del CL; en la literatura se encuentran diferentes estudios y contradictorios, evidenciando que es necesario realizar investigaciones con el fin de elucidar si existe una relación entre el FO, CL y niveles séricos de P4 y si la hay cual es la explicación fisiológica.

Como se puede evidenciar se han realizado varios estudios al respecto, algunos autores indican que existe un rango óptimo de tamaño folicular en el que se pueden llegar a altas tasas de gestación (Machado et al., 2012; Perry et al., 2007), otras investigaciones indican que a mayor diámetro folicular mayores niveles séricos de P4 y porcentajes de preñez (Filho et al., 2010; Lopes et al., 2007), otros estudios sugieren que no existe asociación del

diámetro del FO, tamaño del CL, niveles séricos de P4 y porcentajes de preñez (Lynch et al., 2010; Pfeifer et al., 2009).

En otros países y en el nuestro la mayoría de estudios donde se evalúa folículos en relación con la preñez y el ambiente endocrino, entre otros, han utilizado protocolos de IATF en vacas o novillas, muy pocos estudios se han realizado bajo condiciones normales, en Colombia ésta investigación sería la primera en la cual se hace seguimiento continuo de dos fases o ciclos consecutivos detectando el celo a todas las hembras del estudio y también realizando diferentes mediciones de FO bajo condiciones fisiológicas hasta confirmar su ovulación, es importante hacer este tipo de estudios con el fin de contribuir al conocimiento de la fisiología reproductiva de las vacas de producción de leche y también con resultados que sirvan como punto de partida para futuras investigaciones.

Referencias

- Beam, S. W., & Butler, W. R. (1997). Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biology of Reproduction*, 56(1), 133–142. <http://doi.org/10.1095/biolreprod56.1.133>
- Beam, S. W., & Butler, W. R. (1998). Energy Balance , Metabolic Hormones , and Early Postpartum Follicular Development in Dairy Cows Fed Prilled Lipid. *Journal of Dairy Science*, 81(1), 121–131. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75559-6](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75559-6)
- Carriquiry, M., Dahlen, C. R., Weber, W. J., Lamb, G. C., & Crooker, B. A. (2009). Postpartum ovarian activity in multiparous Holstein cows treated with bovine somatotropin and fed n-3 fatty acids in early lactation 1. *Journal of Dairy Science*, 92(10), 4876–4888. <http://doi.org/10.3168/jds.2008-1675>
- Colazo, M. G., Behrouzi, A., Ambrose, D. J., & Mapletoft, R. J. (2015). Diameter of the ovulatory follicle at timed artificial insemination as a predictor of pregnancy status in lactating dairy cows subjected to GnRH-based protocols. *Theriogenology*, 84(3), 377–83. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.03.034>
- Committee on Bovine Reproductive Nomenclature, 1972. Recommendations for standardizing bovine reproductive terms. *The Cornell Veterinarian*. 62: 216-237.
- Dalton, J. C., Nadir, S., Bame, J. H., Noftsinger, M., Nebel, R. L., & Saacke, R. G. (2001). Effect of Time of Insemination on Number of Accessory Sperm , Fertilization Rate , and Embryo Quality in Nonlactating Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 84(11), 2413–2418. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74690-5](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74690-5)

- Diskin, M. G., Murphy, J. J., & Sreenan, J. M. (2006). Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. *Animal Reproduction Science*, 96(3-4), 297–311. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.08.008>
- Filho, S. M. F., Crespilho, a. M., Santos, J. E. P., Perry, G. a., & Baruselli, P. S. (2010). Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. *Animal Reproduction Science*, 120(1-4), 23–30. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.03.007>
- Forde, N., Beltman, M. E., Lonergan, P., Diskin, M., Roche, J. F., & Crowe, M. a. (2011). Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Animal Reproduction Science*, 124(3-4), 163–169. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.025>
- Galvão, K. N., Flaminio, M. J. B. F., Brittin, S. B., Sper, R., Fraga, M., Caixeta, L., ... Gilbert, R. O. (2010). Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 93(7), 2926–2937. <http://doi.org/10.3168/jds.2009-2551>
- Gonella, A., Grajales, H., & Hernández, A. (2010). Ambiente receptivo uterino: Control materno, control embrionario, muerte embrionaria. *Revista MVZ Cordoba*, 15(1), 1976–1984.
- González J, Jiménez C, Méndez J, Ortiz L, Ruiz A, Vargas A. (1997). Levantamiento edafológico del centro Agropecuario Marengo, Bogotá, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, pp. 1-64.
- Guáqueta, H., Zambrano, J., & Jiménez, C. (2014). Factores que afectan la reactivación ovárica postparto en vacas Holstein, en el trópico alto. *Revista MVZ Cordoba*, 19(1), 3970–3983.

- Hafez, E., & Gordon, I. (1963). Superovulation and related phenomena in the beef cow and hcg injections * SUGIEf Department of Animal Science , Washington State University , { Received, 5(2286), 359–379.
- Jaiswal, R. S., Singh, J., Marshall, L., & Adams, G. P. (2009). Repeatability of 2-wave and 3-wave patterns of ovarian follicular development during the bovine estrous cycle. *Theriogenology*, 72(1), 81–90. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.02.014>
- Kornmatitsuk, S., & Kornmatitsuk, B. (2009). Characteristics of oestrous cycles in Holstein cross-bred dairy heifers: An evidence of delayed post-ovulatory progesterone rise, 337–344. <http://doi.org/10.1007/s11250-008-9194-6>
- Kumar Shrestha, H., Nakao, T., Higaki, T., Suzuki, T., & Akita, M. (2004). Resumption of postpartum ovarian cyclicity in high-producing Holstein cows. *Theriogenology*, 61, 637–649. [http://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00233-4](http://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00233-4)
- Lopes, a. S., Butler, S. T., Gilbert, R. O., & Butler, W. R. (2007). Relationship of pre-ovulatory follicle size, estradiol concentrations and season to pregnancy outcome in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 99(1-2), 34–43. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.04.056>
- Lucy, M. C., Staples, C. R., Michel, F. M., & Thatcher, W. W. (1991). Energy Balance and Size and Number of Ovarian Follicles Detected by Ultrasonography in Early Postpartum Dairy Cows1. *Journal of Dairy Science*, 74(2), 473–482. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78194-0](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78194-0)
- Lynch, C. O., Kenny, D. a., Childs, S., & Diskin, M. G. (2010). The relationship between periovulatory endocrine and follicular activity on corpus luteum size, function, and subsequent embryo survival. *Theriogenology*, 73(2), 190–198. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.08.012>
- Machado, L., Bonilla, S., Schneider, A., Schmitt, E., & Corrêa, M. (2012). Effect of the ovulatory follicle diameter and progesterone concentration on the pregnancy rate of fixed-time inseminated lactating beef cows. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(4), 1004–1008. <http://doi.org/10.1590/S1516-35982012000400024>

- Martínez BR, Martínez MN, Martínez MMD. 2011. Diseño de experimentos en ciencias agropecuarias y biológicas con SAS, SPSS, R Y STATISTIX. Fondo Nacional Universitario. Bogotá, Colombia. Pág 230-255
- Martinez, M. F., Sanderson, N., Quirke, L. D., Lawrence, S. B., & Juengel, J. L. (2016). Theriogenology Association between antral follicle count and reproductive measures in New Zealand lactating dairy cows maintained in a pasture-based production system. *Theriogenology*, 85(3), 466–475. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.09.026>
- Mattheij, J. a M., Swarts, J. J. M., Hurks, H. M. H., & Mulder, K. (1994). Advancement of Meiotic Resumption in Graafian-Follicles By Lh in Relation To Preovulatory Aging of Rat Oocytes. *Journal of Reproduction and Fertility*, 100(1), 65–70. Retrieved from <Go to ISI>://WOS:A1994NE61400010
- Mihm, M., Baguisi, A., Boland, M. P., & Roche, J. F. (1994). follicle and pregnancy rate in beef heifers.
- Moor, R. M., & Rowson, L. E. A. (1966). The corpus luteum of the sheep: effect of the removal of embryos on luteal function. *Journal of Endocrinology*, 34(4), 497–502. <http://doi.org/10.1677/joe.0.0340497>
- Moor, R.M., Rowson, L.E.A., Hay, M.F., & Caldwell, B.V. (1969). The corpus luteum of the sheep: effect of the conceptus on luteal function at several stages during pregnancy. *Journal of Endocrinology*, 43(2), 301–307. <http://doi.org/10.1677/joe.0.0430301>
- Murdoch, W. J., & Van Kirk, E. a. (1998). Luteal dysfunction in ewes induced to ovulate early in the follicular phase. *Endocrinology*, 139(8), 3480–3484. <http://doi.org/10.1210/en.139.8.3480>
- Noseir, W. M. B. (2003). Ovarian follicular activity and hormonal profile during estrous cycle in cows : the development of 2 versus 3 waves, 6, 4–9.
- Palmer, M. a., Olmos, G., Boyle, L. a., & Mee, J. F. (2012). A comparison of the estrous behavior of Holstein-Friesian cows when cubicle-housed and at pasture.

Theriogenology, 77(2), 382–388.
<http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.08.010>

- Paredes, Jiménez, & Hernández. (2012). Study of the interovulatory interval in colombian criollo mares el ciclo estral (CE) se define como el intervalo transcurrido entre una ovulación y la siguiente . Su duración en la especie equina es aproximadamente de 21 días y presenta dos fases , la, 59(I), 32–48.
- Perry, G. a., Smith, M. F., Roberts, a. J., MacNeil, M. D., & Geary, T. W. (2007). Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *Journal of Animal Science*, 85(3), 684–689. <http://doi.org/10.2527/jas.2006-519>
- Pfeifer, L. F. M., Mapletoft, R. J., Kastelic, J. P., Small, J. a., Adams, G. P., Dionello, N. J., & Singh, J. (2009). Effects of low versus physiologic plasma progesterone concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. *Theriogenology*, 72(9), 1237–1250. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.07.019>
- Quezada-casasola, A., Avendaño-reyes, L., & Correa-calderón, A. (2014). Estrus behavior , ovarian dynamics , and progesterone secretion in Criollo cattle during estrous cycles with two and three follicular waves, 675–684. <http://doi.org/10.1007/s11250-014-0562-0>
- Roelofs, J. B., Graat, E. A. M., Mullaart, E., & Soede, N. M. (2006). Effects of insemination – ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle, 66, 2173–2181. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.07.005>
- Sakaguchi, M., Sasamoto, Y., Suzuki, T., Takahashi, Y., & Yamada, Y. (2004). Postpartum ovarian follicular dynamics and estrous activity in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87(7), 2114–2121. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70030-2](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70030-2)
- Santos, J. E. P., Thatcher, W. W., Chebel, R. C., Cerri, R. L. A., & Galvão, K. N. (2004). The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs, 83, 513–535. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.015>

- Senger, P. L. (1994). The Estrus Detection Problem : New Concepts , Technologies , and Possibilities. *Journal of Dairy Science*, 77(9), 2745–2753. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77217-9](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77217-9)
- Stronge, a. J. H., Sreenan, J. M., Diskin, M. G., Mee, J. F., Kenny, D. a., & Morris, D. G. (2005). Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*, 64(5), 1212–1224. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.02.007>
- Vasconcelos, J. L. M., Sartori, R., Oliveira, H. N., Guenther, J. G., & Wiltbank, M. C. (2001). Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*, 56(2), 307–314. [http://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00565-9](http://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00565-9)
- Vasconcelos, J. L. M., Silcox, R. W., Rosa, G. J. M., Pursley, J. R., & Wiltbank, M. C. (1999). Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 52(99), 1067–1078. [http://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00195-8](http://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00195-8)
- Walsh, S. W., Williams, E. J., & Evans, a. C. O. (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 123(3-4), 127–138. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.12.001>
- Wiltbank, M. C., Sartori, R., Herlihy, M. M., Vasconcelos, J. L. M., Nascimento, A. B., Souza, A. H., Gumen, A. (2011). Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 76(9), 1568–82. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.08.012>
- Wolfenson, D., Inbar, G., Roth, Z., Kaim, M., Bloch, A., & Braw-Tal, R. (2004). Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. *Theriogenology*, 62(6), 1042–1055. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.12.020>

3. Conclusiones y recomendaciones

3.1 Conclusiones

En este estudio se observó que no hubo diferencias significativas en los niveles séricos de P4 y los volúmenes de los CL los días 6, 9, 12 y 15 en vacas de 2 y 3 ondas de crecimiento folicular. Tampoco hubo diferencias significativas en los niveles séricos de P4 y los volúmenes de los CL los días 6, 9, 12 y 15 cuando se compararon los valores obtenidos en vacas gestantes con los de las no gestantes, adicionalmente no se encontró asociación del volumen del cuerpo lúteo y los niveles séricos de progesterona con la gestación temprana.

Al realizar el seguimiento del FO en la segunda fase se determinó que las vacas gestantes (9/19) presentaron diámetros del FO (17.8 ± 2.39 mm) significativamente más pequeños comparados con las no gestantes (10/19) (21.10 ± 2.86 mm) y se encontró relación del menor diámetro del FO con la gestación temprana; además de las 10 vacas no gestantes se diagnosticaron 5 con retorno normal al celo, y 5 presentaron retorno tardío al celo; en donde las hembras con retorno normal al celo presentaron diámetros del FO en promedio de 21.38 ± 2.6 mm y las vacas con retorno tardío presentaron diámetros de FO en promedio de 22.46 ± 2.02 mm.

Se encontró asociación entre el diámetro del FO y el volumen del cuerpo lúteo. Y no hubo asociación entre el volumen del cuerpo lúteo y los niveles séricos de progesterona, es decir que independientemente del tamaño del cuerpo lúteo, la producción de progesterona fue similar.

3.2 Recomendaciones

Teniendo en cuenta que el diámetro del FO fue significativamente más pequeño en vacas gestantes comparado con las no gestantes y que además está relacionado con la gestación temprana, amerita un estudio que permita identificar si los oocitos provenientes de folículos de grandes diámetros presentan maduración temprana afectando la fertilización o conllevando a una ME; además sería importante incluir la evaluación de otras hormonas como E2, LH, FSH y evaluar su relación con el periodo de crecimiento o duración de la dominancia del FO.

En esta investigación se encontró relación del diámetro del FO con el volumen del cuerpo lúteo, sería interesante realizar un estudio morfológico con el fin de caracterizar la dinámica de las poblaciones celulares responsables de la producción de progesterona en el ovario de la vaca, y establecer la relación y las posibles variaciones cuantitativas en las células foliculares y el número de estas células que expresan receptores para LH en FO de diferentes diámetros.

Es necesario realizar más estudios en vacas de diferentes razas, bajo condiciones fisiológicas, en diferentes condiciones medioambientales, para establecer los factores que pueden influir en la reactivación ovárica posparto, en la dinámica folicular, tamaño del FO y el éxito de la gestación.

El presente trabajo puede contribuir a la elaboración de valores de referencia en cuanto a los parámetros evaluados como tamaño del FO, niveles séricos de progesterona y volumen del CL; además constituye una referencia nacional importante debido a que se detectó el celo a todos los animales, realizando seguimiento del FO hasta confirmar la ovulación, posteriormente se realizó secuencia de perfiles de P4 y volumen luteal constantemente hasta la confirmación de la gestación o ausencia de ella, permitiendo identificar el comportamiento reproductivo de los animales a través del tiempo y realizar comparación entre ellos.