

ESTUDIO DE LA DINÁMICA FOLICULAR EN NOVILLAS SIMMENTAL FLECKVIEH: SEGUNDA PARTE

Alex Solís Corrales^{1*}; Reinaldo de Armas¹; Juan Morales²;
Ramón Denis García³

¹Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Centro de Investigaciones en Biotecnologías Agropecuarias (CIBA).

²Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Centro de Biotecnología de la Reproducción (CBR). Torreón Coahuila, México.

³Ministerio de la Agricultura, Centro de Investigaciones para el Mejoramiento Animal de la Ganadería Tropical (CIMAGT). La Habana, Cuba.

*alex.solis@up.ac.pa, reinaldo.dearmas@up.ac.pa, moralesnarrojlm@gmail.com, denis@cima-minag.cu



RESUMEN

El objetivo fue caracterizar la dinámica folicular en novillas de la raza Simmental Fleckvieh en condiciones de clima tropical de sabana. Se estudiaron 16 ciclos estrales en ocho animales (dos ciclos consecutivos por animal). Se encontraron diferencias estadísticas significativas para el número de folículos pequeños entre ciclos ($P < 0,001$) y entre ondas ($P < 0,001$). La mayor cantidad de folículos pequeños antes de la selección del folículo dominante se observó entre los días 2,00 y 4,00 después de iniciado el crecimiento de una nueva onda. El diámetro alcanzado por el folículo dominante pre-ovulatorio de la segunda onda (15,05 mm) fue significativamente mayor ($P < 0,05$) al del folículo dominante de la primera onda (12,70 mm). En conclusión, el número de folículos que emergen en cada ciclo estral y cada onda de desarrollo folicular, es distinto incluso en un mismo animal. El día con el mayor número de folículos pequeños se da al inicio de la onda de desarrollo folicular. Los folículos pre-ovulatorios alcanzan un mayor diámetro que los folículos dominantes de la primera onda.

PALABRAS CLAVES: Ciclo estral, onda folicular, folículos, folículo dominante, folículo preovulatorio.

STUDY OF THE FOLLICULAR DYNAMICS IN SIMMENTAL FLECKVIEH HEIFERS: SECOND PART

ABSTRACT

The objective of this research was to characterize the follicular dynamics in heifers of the Simmental Fleckvieh breed in tropical savanna climate conditions. Sixteen estrous cycles were studied in eight animals (two consecutive cycles per animal). Significant statistical differences were found for the number of small follicles between cycles ($P < 0.001$) and between waves ($P < 0.001$). The largest number of small follicles before selection of the dominant follicle were observed between days 2.00 and 4.00 after the start of the growth of a new wave. The diameter reached by the pre-ovulatory dominant follicle of the second wave (15.05 mm) was significantly greater ($P < 0.05$) than that of the dominant wave follicle (12.70 mm). In conclusion, the number of follicles that emerge in each estrous cycle and each wave of follicular development is different even in the same animal. The day with the largest number of small follicles occurs at the beginning of the wave of follicular development. The pre-ovulatory follicles reach a greater diameter than the dominant follicles of the first wave.

KEY WORDS: Estral cycle, follicular wave, follicles, dominant follicle, preovulatory follicle.

INTRODUCCIÓN

Se ha definido como onda folicular a la activación y crecimiento simultáneo de un grupo de folículos terciarios, donde uno de ellos llamado folículo dominante, continúa su crecimiento y diferenciación, mientras que los otros (folículos subordinados), se atresian (Gigli *et al.*, 2006).

A finales de la década del 80 y comienzo de los 90 con el empleo de la ultrasonografía en la especie bovina, se logró determinar, que a lo largo del ciclo estral existen patrones de dos o tres ondas de crecimiento folicular (Bo y Mapletoft, 1999; Gordon, 1996; Noakes *et al.*, 2009), aunque pueden existir patrones de una, o cuatro ondas, por lo general cuando se trata de animales *Bos indicus* (Ginther *et al.*, 1989; Savio *et al.*, 1988).

Los estudios de la dinámica folicular constituyeron la base de los trabajos utilizados para sincronizar el estro con mayor precisión, incrementar la respuesta superovulatoria y la cantidad de ovocitos colectados en las sesiones de OPU (Bridges y Fortune, 2003; Patterson *et al.*, 2003). De

manera que los conocimientos sobre la dinámica folicular pueden ayudar a mejorar la eficiencia de las biotecnologías de la reproducción.

En esta investigación se planteó como objetivo caracterizar algunas variables de la dinámica folicular en novillas de la raza Simmental Fleckvieh en condiciones de clima tropical de sabana.

Parte Experimental

Como material experimental se emplearon 8 novillas cíclicas de la raza Simmental Fleckvieh, con edades entre 16 y 18 meses, peso de 350 a 400 Kg y condición corporal de 3.25 a 3.50 (en escala de 1 a 5).

Se estudiaron 16 ciclos estrales (dos ciclos consecutivos por animal). Se realizaron observaciones ecográficas diariamente a partir de las manifestaciones de celo.

El celo fue sincronizado empleando dispositivos intravaginales liberadores de progesterona (Sincrogest®), benzoato de estradiol (Over®), prostaglandina sintética (Sincroplex®) y PMSG (Folligon®), en un protocolo que se describe a continuación:

Día 0: Dispositivo intravaginal + 2 mg de benzoato de estradiol

Día 8: Retiro del dispositivo + 2 mL de prostaglandina + 300 UI de PMSG

Día 9: 1 mg de benzoato de estradiol

Día 10: Celos e inicio de la primera observación ultrasonográfica.

La exploración ovárica se realizó empleando un ultrasonido portátil, acoplado a un transductor lineal de 6,5 MHz, el cual fue introducido vía transrectal y colocado sobre la superficie de los ovarios, lo que permitió visualizar en la pantalla del ultrasonido las estructuras presentes (folículos y cuerpos lúteos) y evaluar su número y tamaño. Los folículos observados fueron medidos y clasificados en tres tamaños: pequeños ($\leq 5,0$ mm), medianos (6,0 a 10,0 mm) y grandes ($\geq 11,0$ mm).

Parámetros evaluados:

- Número de folículos
- Tamaño de los folículos
- Día dentro del ciclo estral.

Análisis estadístico:

Se utilizó estadística descriptiva para las variables: días de la onda con el mayor número de

folículos pequeños y día del diámetro máximo del folículo dominante.

Para las variables número de folículos por tamaño y diámetro máximo del fólculo dominante se empleó un análisis de varianza según DCA y se aplicó dócima de t de student para $P < 0.05$, considerando como efecto las ondas y los ciclos evaluados.

El modelo matemático empleado fue el siguiente:

$$y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

y_{ij} = Variable

μ = Media

t = Efecto de ciclo o efecto onda

e = Error

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se aprecia en la tabla uno, se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.001$) para el número de folículos pequeños entre ciclos Este hallazgo ha sido respaldado por distintos autores, los cuales han indicado que los mismos animales puede presentar patrones de desarrollo folicular diferentes entre ciclos (Adams *et al.*, 2008; Mello *et al.*, 2014). Solís y de Armas (2010), bajo las mismas condiciones climáticas que en este trabajo y con animales mestizos Simmental por Brahman reportaron que un mismo animal podía presentar diferentes patrones de desarrollo folicular en cada ciclo.

Tabla 1. Promedio de folículos clasificados según tamaño, en los ciclos estrales de dos ondas.

Folículos clasificados según tamaño ($\bar{X} \pm EE$)	n	Ciclos		
		Primero	Segundo	Significación
Pequeños	532	7.25 \pm 0.29	8.89 \pm 0.25	$P < 0.0001$
Medianos	267	1.64 \pm 0.08	1.74 \pm 0.07	$P = 0.3772$
Grandes	158	1.16 \pm 0.04	1.09 \pm 0.03	$P = 0.1652$

Valores en la misma fila con $P < 0,05$ difieren entre sí.

Se encontró diferencias altamente significativas ($P < 0,0001$) para número de folículos pequeños entre la primera y la segunda onda (Tabla 2). La polémica sobre la respuesta folicular entre la

primera y la segunda onda, ha sido debatida en décadas posteriores por muchos autores (Adams *et al.*, 1994; Grasso *et al.*, 1989; Ireland y Roche, 1983; Lindsell *et al.*, 1985), desde los inicios de los tratamientos superovulatorios.

Finalmente, los resultados en la práctica llevaron a la determinación general de realizar el inicio de los tratamientos superovulatorios durante la segunda onda de desarrollo folicular ya que esta mostró resultados superiores en cuanto al número de folículos disponibles para la superovulación (de Armas, 2007). Este hallazgo coincide con nuestros resultados, los cuales mostraron un mayor número de folículos pequeños en la segunda onda *versus* la primera.

Tabla 2. Promedio de folículos clasificados según tamaño en la primera y segunda onda.

Folículos clasificados según tamaño ($\bar{X} \pm EE$)	n	Ondas		Significación
		Primera	Segunda	
Pequeños	532	7.61 \pm 0.28	8.70 \pm 0.27	P=0.0049
Medianos	267	1.67 \pm 0.08	1.71 \pm 0.08	P=0.6907
Grandes	158	1.17 \pm 0.03	1.05 \pm 0.04	P=0.0645

Valores en la misma fila con $P < 0,05$ difieren entre sí.

A nuestro criterio, el mayor número de folículos pequeños encontrados en este estudio, pudo estar influenciado por un mayor nivel de FSH en la segunda onda. Al respecto Palma (2008), señaló que el motivo por el cual los folículos primordiales comienzan a desarrollar y se convierten en preantrales no es conocido, sin embargo, la gonadotropina como la FSH puede incrementar el número de folículos preantrales que se convierten en antrales.

Ginther *et al.* (2001) graficaron la presencia de picos de FSH previamente al inicio de una onda de desarrollo folicular, con niveles similares entre la onda uno y dos. Franco y Uribe (2012), en ovejas, indicaron que el pico de concentraciones plasmáticas de la FSH en la onda dos resulta ser más alto que en la onda uno. Más recientemente Ginther *et al.* (2015), con vacas Holstein en clima templado encontraron mayores niveles en los picos de FSH de la primera onda que en la segunda onda.

Estos últimos hallazgos discrepan de los nuestros, no obstante, observaciones propuestas por este mismo autor sugieren que las diferencias pudieron deberse a los efectos de raza y clima que eran distintos entre experimentos (Ginther, comunicación personal, 4 de diciembre de 2015).

Como se puede ver en la tabla tres, la mayor cantidad de folículos pequeños antes de la selección del folículo dominante se observó entre los días 2.00 y 4.00 después de iniciado el crecimiento de una nueva onda. Al respecto, Adams *et al.* (2008) señalaron que la tasa de crecimiento es similar entre todos los folículos hasta los dos días después de iniciada la onda. Bo, (2002) con animales *Bos taurus*, al sincronizar la onda empleando estradiol más progesterona encontró mayor número de folículos pequeños a los tres y cuatro días después de iniciada la onda.

Por otro lado, Corredor y Páez, (2012) señalaron que el momento de la onda más indicado para iniciar la aspiración folicular es antes de la selección del folículo dominante cuando exista la mayor presencia de folículos pequeños, por lo tanto, el hallazgo en el presente experimento sugiere realizar la aspiración de dos a cuatro días después de iniciada una onda de desarrollo folicular.

Tabla 3. *Días con el mayor número de folículos pequeños y del diámetro máximo del folículo dominante en los ciclos estrales con dos ondas.*

Variables	Ondas							
	Primera Onda				Segunda Onda			
	\bar{X}	DE	Mín.	Máx.	\bar{X}	DE	Mín.	Máx.
Día del mayor número de folículos	2.40	0.80	2.00	4.00	2.70	0.70	2.00	4.00
Día del diámetro máximo	11.17	2.12	9.00	15.00	20.42	1.56	18.00	23.00

El folículo dominante de la primera onda y el folículo dominante de la segunda onda (folículo pre-ovulatorio), alcanzaron su diámetro máximo los días 11.17 y 20.42 respectivamente (Tabla 3).

Denis *et al.* (2007a), con hembras del genotipo Siboney de Cuba reportaron el diámetro máximo a los días 7.2 y 17.8 del ciclo, en tanto que Solís y de Armas (2010), con novillas mestizas Simmental por Brahman, reportaron el diámetro máximo de la primera onda el día 10.0 y el de la segunda onda el día 21.17. Estos últimos resultados se asemejan más a los encontrados en este experimento

posiblemente por la mayor similitud genotípica entre los animales estudiados, además de que ambos estudios fueron realizados bajo las mismas condiciones microambientales.

Resulta oportuno señalar que aún no se ha aclarado por completo el mecanismo de selección del folículo dominante. Sin embargo, se sabe que al mismo tiempo que los perfiles de crecimiento del folículo dominante y de los subordinados comienzan a diferenciarse, la FSH declina rápidamente, esta situación propicia que los niveles de FSH se encuentren por debajo de los niveles necesarios para el desarrollo de los folículos subordinados que sufren atresia, mientras el folículo dominante adquiere la habilidad de seguir creciendo con bajos niveles de FSH (Ginther *et al.*, 1996).

Como se observa en la figura uno, el diámetro alcanzado por el folículo dominante pre-ovulatorio de la segunda onda (15,05 mm) fue significativamente mayor ($P < 0,05$) al del folículo dominante de la primera onda (12,70 mm). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores como Denis *et al.* (2007a) y Del Valle (2008), quienes indicaron que el folículo preovulatorio presenta un diámetro mayor que los folículos dominantes de las ondas anteriores.

Solís y de Armas (2010) encontraron un mayor tamaño del folículo dominante preovulatorio (14,5 mm), comparado con el folículo dominante de la onda anterior (13,67 mm). Cummins *et al.* (2012), reportaron con vacas Holstein de alto mérito genético un tamaño máximo del folículo dominante preovulatorio de 17,91 mm *versus* 16,70 mm del folículo dominante de las ondas anteriores.

Denis (2006) señalaron que el menor tamaño de los folículos dominantes que anteceden a folículo preovulatorio puede ser debido a que estos se desarrollan a mitad del ciclo donde hay altos niveles de progesterona. Fenómeno que a nuestro criterio es responsable de un menor aporte gonadotrópico necesario para el crecimiento de folículo dominante.

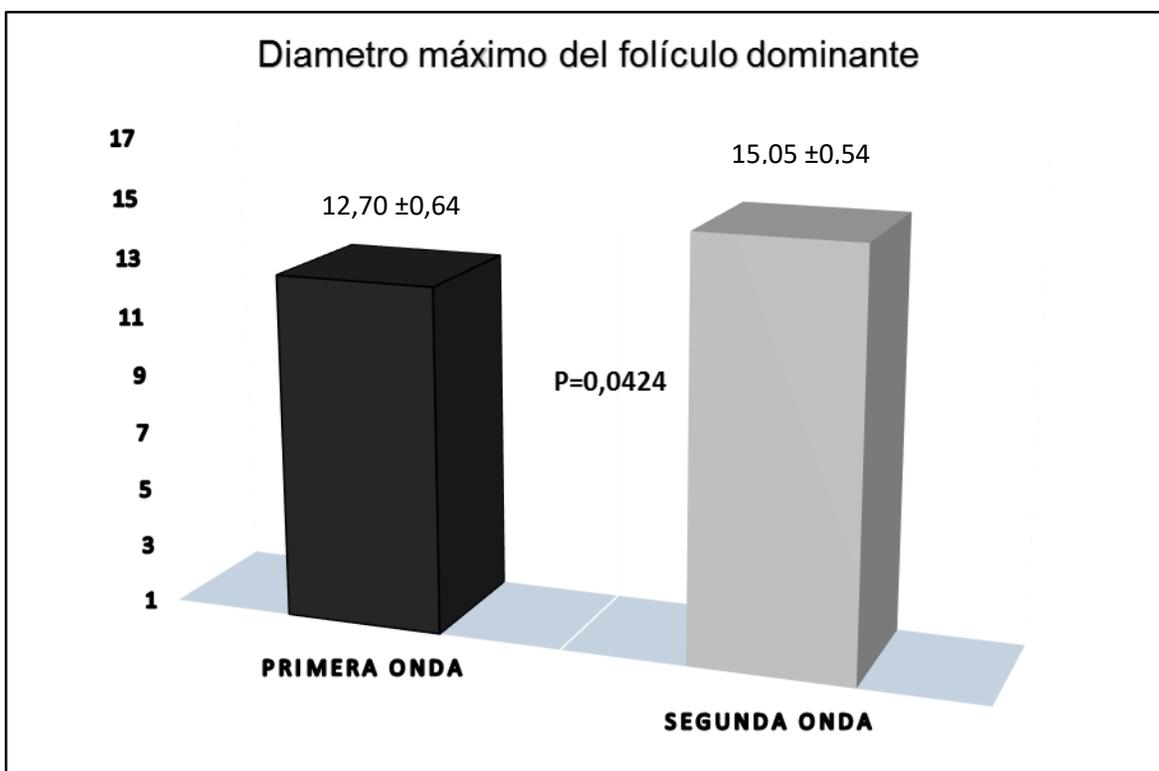


Figura 1. Diámetro máximo alcanzado por el folículo dominante en la primera y en la segunda onda.

Del Valle (2008) señaló que en vacas *Bos taurus* el folículo dominante de la primera onda puede alcanzar entre 15 y 18 mm, en tanto que el folículo dominante pre-ovulatorio de la segunda onda puede llegar a medir hasta 18 mm. García-Bracho *et al.* (2015) reportaron diámetros del folículo dominante de 10.03 mm en vacas mestizas, Andringa *et al.* (2013) con vacas Holando reportaron diámetros máximos de folículos preovulatorios de 16,2 mm, en tanto que Perry *et al.* (2007) reportaron diámetros máximos de 15.7 mm.

Frandsen *et al.* (2013) indicaron que la cavidad folicular donde ocurre la ovulación, es revestida principalmente por células de la granulosa que inician su multiplicación por influencia de la LH, hasta formar el cuerpo lúteo, cuya producción endocrina primaria es la progesterona. Dicha hormona, durante esta parte del ciclo tiene la función principal de preparar al útero para la preñez, incrementando las secreciones endocrinas del útero e inhibiendo la motilidad uterina para favorecer la implantación. También señalaron que cuando el cuerpo lúteo alcanza su máximo desarrollo la producción de progesterona es máxima y los niveles en plasma se estabilizan.

CONCLUSIONES

El número de folículos que emergen en cada ciclo estral puede ser significativamente distinto incluso en un mismo animal.

El número de folículos que emergen en cada onda de desarrollo folicular es significativamente distinto.

El día con el mayor número de folículos pequeños se da al inicio de la onda de desarrollo folicular.

Los folículos pre-ovulatorios alcanzan un mayor diámetro que los folículos dominantes de la primera onda.

RECOMENDACIÓN

Utilizar los resultados de este estudio como base para el desarrollo de los trabajos biotecnológicos más empleados en reproducción animal, a saber: el diagnóstico reproductivo por ecografía, sincronización del estro para inseminación y transferencia de embriones en tiempo fijo, superovulación y aspiración folicular *in vivo*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, G. P., Jaiswal, R., Singh, J; y Malhi, P. (2008). Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*, 69(1), 72-80.
- Adams, G. P., Nasser, L. F., Bo, G. A., Garcia, A., Del Campo, M. R. y Mapletoft, R. J. (1994). Superovulatory response of ovarian follicles of Wave 1 *versus* Wave 2 in heifers. *Theriogenology*, 42(7), 1103-1113.
- Andringa, M. F. A., Cavestany, D. y Van Eerdenburg, F. J. C. M. (2013). Relaciones entre la expresión de celo, tamaño del folículo y ovulación en vacas de leche en pastoreo. *Veterinaria*, 49(189), 2-11.
- Bo, G. A. (2002). *Fisiología y Reproducción. En: XI Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal* (Del 22 al 26 de octubre de 2002, Valera, Venezuela). Dinámica folicular y tratamientos hormonales para sincronizar la ovulación en el ganado bovino. Córdoba, Argentina. Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC). p-p 1-17.
- Bo, G. A. y Mapletoft, R. J. (1999). Control del desarrollo folicular y su aplicación en programas de superovulación de donantes de embriones. *Taurus*, 1(4), 14-27.
- Bridges, P. J. y Fortune, J. E. (2003). Characteristics of developing prolonged dominant follicle in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 38, 405-409.
- Corredor, E. S. C. y Páez, E. M. B. (2012). Aplicaciones de la ultrasonografía en la reproducción bovina: revisión. *Revista Ciencia y Agricultura*, 9(2), 29-37.
- Cummins, S. B., Lonergan, P., Evans, A. C. O. y Butler, S. T. (2012). Genetic merit for fertility traits in Holstein cows: II. Ovarian follicular and corpus luteum dynamics, reproductive hormones, and estrus behavior. *Journal of Dairy Science*, 95(7), 3698-3710.
- de Armas, R. (2007). *Transferencia de embriones en el ganado bovino*. Universidad de Panamá, Panamá. p. 45-48.
- Del Valle, D. T. (2008). Dinámica folicular ovárica durante el ciclo estral en vacas doble propósito. En: González S.C; Madrid B.N; Soto B.I. Desarrollo sostenible de la ganadería doble propósito (p-p 546-554). Zulia Venezuela. Fundación GIRARZ.
- Denis, R. G. (2006). *Manipulación de las ondas foliculares y obtención sostenible de ovocitos de calidad en hembras del genotipo Siboney de Cuba*. Disertación Doctoral. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Veterinaria. Instituto De Ganadería Tropical. La Habana, Cuba.
- Denis, R. G., Gil, A. D., Fuentes, D. S., Lliteras, E. y Chog, M. (2007^a). Dinámica y sincronización de las ondas foliculares en vacas del genotipo Siboney de Cuba. *Ciencia y Tecnología Ganadera*, 1(1-2), 23-33.

- Franco, J. y Uribe-Velásquez, L. F. (2012). Reproductive hormones of veterinary importance in domestic ruminant females. *Biosalud*, 11(1), 41-56.
- Frandsen, R. D., Wilke, W. L., y Fails, A. D. (2013). *Anatomy and physiology of farm animals*. John Wiley & Sons. 7a Ed. 434 p.
- García-Bracho, D., Hahn, M., Pino, D., Perea, F. y Leal, M. (2015). Crecimiento folicular y diámetro del folículo dominante en vacas mestizas a pastoreo afectadas por claudicaciones agudas. *Revista Científica FCV-LUZ*, 3, 219-222.
- Gigli, I., Russo, A. y Agüero, A. (2006). Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *Investigación Veterinaria*, 8(1), 183-204
- Ginther, O. J. (2015). University of Wisconsin – Madison, School of Veterinary Medicine (comunicación personal). 4 de diciembre de 2015.
- Ginther, O. J., Siddiqui, M. A. R., Baldrighi, J. M., Wolf, C. A. y Greene, J. M. (2015). Differences between follicular waves 1 and 2 in patterns of emergence of 2-mm follicles, associated FSH surges, and ovarian vascular perfusion in heifers. *Theriogenology*, 84(6), 853-861.
- Ginther, O. J., Beg, M. A., Bergfelt, D. R., Donadeu, F. X. y Kot, K. (2001). Follicle selection in monovular species. *Biology of Reproduction*, 65(3), 638-647.
- Ginther, O. J., Wiltbank, M. C., Fricke, P. M., Gibbons, J. y Kot, K. (1996). Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction*, 55, 1187-1194.
- Ginther, O. J., Kastelic, J. P. y Knopf, L. (1989). Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Animal Reproduction Science*, 20(3), 187-200.
- Gordon, I. (1996). *Controlled Reproduction in Cattle and Buffaloes*. CAB International. Dublin, Ireland. 523 p.
- Grasso, F., Guilbault, L. A., Roy, G. L., Matton, P. y Lussier, J. G. (1989). The influence of the presence of a dominant follicle at the time of initiation of a superovulatory treatment on superovulatory responses in cattle. *Theriogenology*, 31(1), 199.
- Ireland, J. J. y Roche, J. F. (1983). Growth and differentiation of large antral follicles after spontaneous luteolysis in heifers: changes in concentration of hormones in follicular fluid and specific binding of gonadotropins to follicles. *Journal of Animal Science*, 57(1), 157-167.
- Lindsell, C. E., Pawlyshyn, V., Bielanski, A. y Mapletoft, R. J. (1985). Superovulation of heifers with FSH-P beginning on four different days of the cycle. *Theriogenology*, 23(1), 203
- Mello, R. R. C., Ferreira, J. E., Mello, M. R. B. y Palhano, H. B. (2014). Aspectos da dinâmica folicular em bovinos. *Agropecuária científica no semiárido*, 10(4), 01-06.

- Noakes, D. E., Parkinson, T. J. y England, C. W. (2009). *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Elsevier. 8a Ed. 868 p.
- Palma, G. A. (2008). *Biotecnología de la Reproducción*. Mar del Plata, 2a Ed. Córdoba, Argentina. 669 p.
- Patterson, D. J. F., Kojima, N. y Smith, M. F. (2003). A review of methods to synchronize estrus in replacement beef heifers and postpartum cows. *Journal of Animal Science*. 81(2), E166-E177.
- Perry, G. A., Smith, M. F., Roberts, A. J., MacNeil, M. D. y 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.
- Savio, J. D., Keenan, L., Boland, M. P. y Roche, J. F. (1988). Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*, 83, 663-671.
- Solís, C. A. y de Armas, R. (2010). Estudio de la dinámica folicular mediante ultrasonografía en novillas F1 Simmental x Brahman. *Revista Investigación Agropecuaria*, 10, 32-40.