



Interval." *Journal of Dairy Science* 86 (6). Elsevier: 1876–94. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73775-8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12836922>.

• Shephard, R W. 2013. "Efficacy of Inclusion of Equine Chorionic Gonadotrophin into a Treatment Protocol for Anoestrous Dairy Cows." *New Zealand Veterinary Journal* 61 (6). Taylor & Francis: 330–36. doi:10.1080/00480169.2013.809633. <http://dx.doi.org/10.1080/00480169.2013.809633>.

• Souza, a H, S Viechnieski, F a Lima, F F Silva, R Araújo, G a Bó, M C Wiltbank, and P S Baruselli. 2009. "Effects of Equine Chorionic Gonadotropin and Type of Ovulatory Stimulus in a Timed-AI Protocol on Reproductive Responses in Dairy Cows." *Theriogenology* 72 (1): 10–21. doi:10.1016/j.

theriogenology.2008.12.025. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19269685>.

• Xu, Zhenzhong, and Lindsay Burton. 2003. "Reproductive Performance of Dairy Cows in New Zealand." *Livestock Improvement Corporation*. <http://medcontent.metapress.com/index/A65RM03P4874243N.pdf>.

• Xu ZZ, Burton LJ, and Macmillan KL. 1997. "Treatment of Post-Partum Anoestrous Dairy Cows with Progesterone, Oestradiol and Equine Chorionic Gonadotropin." *New Zealand Veterinary Journal* 45 (5): 205–7.

RELACIÓN ENTRE ESTRUCTURAS OVÁRICAS Y FERTILIDAD EN BOVINOS

M. Martínez¹, L. Quirke¹, S. Lawrence¹, N. Sanderson², J. Juengel¹

¹ AgResearch Limited, Invermay Agricultural Centre, Mosgiel, Dunedin, New Zealand, 9013

² Advanced Genetics Ltd. Oamaru, New Zealand.



RESUMEN

Existe una correlación entre el número de folículos antrales y la reserva ovárica. Se ha encontrado que hay también una asociación entre el número de folículos y la fertilidad en vacas lecheras y de cría. Dado que se ha comprobado esta relación entre recuento folicular y fertilidad, y que existen diferentes métodos para el recuento folicular, podrían ser utilizados prácticamente en la selección de hembras más fértiles y de donantes de embriones o para el rechazo de animales de baja fertilidad.

INTRODUCCIÓN

Los objetivos de la productividad ganadera están afectados por producción individual de los animales. En el caso de la hembra bovina, la fertilidad juega un papel muy importante para su productividad. El objetivo común en la vaca de cría es obtener al menos un ternero por vaca por año, mientras que en el caso de la vaca lechera en condiciones pastoriles es producir leche para lo cual se necesita también que ocurra una gestación por año. Teniendo un ternero por año contribuirá a la fuente de recria para los reemplazos. Para tener una alta tasa de fertilidad en un rodeo comercial, un sinnúmero de factores deben estar alineados. Una vez que el

manejo nutricional y sanitario de los animales está en excelentes condiciones, es necesario ajustar los procesos reproductivos para que respondan de una manera eficiente. Esto es especialmente importante dado que la reproducción puede ser considerada como un lujo desde la perspectiva de la supervivencia individual animal. Tal es así que cualquier cambio en el manejo de los factores nutricionales o sanitarios, en la selección genética que implique una alteración o desviación de la energía para otros fines, puede resultar en un perjuicio de la reproducción. Uno de los interrogantes es si la intensidad de selección genética para la producción lechera está afectando la fertilidad de las vacas. Básicamente, la selección para un rasgo genético puede ser contraproducente para otro. Lo único que se conoce es que la eficiencia reproductiva ha disminuido globalmente en los últimos 50 años.

El objetivo de esta revisión es presentar un fenotipo ovárico que podría eventualmente ser usado para la selección de vacas fértiles o para eliminación de vacas infértiles.



HISTORIA DE LOS ESTUDIOS DE LA ANATOMÍA OVÁRICA EN RELACIÓN A LOS FOLÍCULOS Y LA RESERVA OVÁRICA.

Desde hace mucho tiempo se ha tratado de relacionar el número de folículos ováricos con la fertilidad de la hembra (Hunter, 1787). En la década de 1960, Erickson estudió ovarios de vacas enviadas a matadero con el objetivo de interpretar el estado ovárico y sus células germinales en animales recién nacidos hasta 20 años de edad (Erickson, 1966). Uno de los principales hallazgos de este trabajo fue la extrema variación individual de 0 (cero) a 700.000 células germinales en hembras infértiles y fértiles, respectivamente. También se encontró diferentes perfiles individuales en el número de folículos primordiales. Otro trabajo realizado en un número pequeño de vacas reportó una gran variación en la cantidad de folículos menores a 5 mm durante el ciclo estral y la gestación (J. B. Choudary, H. T. Gier and G. B. Marion, 1968 JAS). Erickson (1966) también observó que el número de folículos primordiales permaneció estable hasta los 4 ó 6 años de vida, reduciéndose a un número cercano a cero cuando las vacas alcanzaron los 20 años. Al mismo tiempo, ese autor propuso la hipótesis de una posible asociación del número de células germinales con la fertilidad del animal y el número de terneros/as producidos/as durante su vida.

FISIOLOGÍA OVÁRICA

En los últimos años, el conocimiento de la anatomía y la fisiología ovárica ha avanzado en muchos aspectos. No sólo esto ha ocurrido en la dinámica estructural macro-anatómica, sino también en la fisiología microscópica y molecular del ovario.

El desarrollo folicular comienza en la vida embrionaria y fetal. El ovario fetal ya tiene sus folículos primordiales con las ovogonias alrededor de la mitad de la gestación. Una ternera nace con una completa población de ovogonias dentro de folículos primordiales, los cuales tienen una sola capa celular (Erickson, 1966). Como se mencionó anteriormente hay una gran variación en el número de ovogonias que representan la reserva ovárica. En promedio, el número de folículos es de 130.000 al momento del nacimiento (Erickson, 1966). Esta reserva de folículos va a ser el número definitivo para el resto de la vida de una vaca. El proceso de "reclutamiento" comienza con la formación de los folículos primarios que están rodeados por células cúbicas (futuras células de la granulosa). Cuando éstas comienzan a multiplicarse formando capas celulares adicionales, el folículo pasa a llamarse secundario. Luego el espacio intercelular

comienza a ser invadido por fluido formando lagunas que convergen completando la formación del antro folicular. Los folículos antrales son también llamados folículos terciarios. Los folículos más desarrollados y visibles se han denominado folículos de DeGraaf. Estos pueden convertirse en dominantes en algunos casos, y un folículo dominante se convertirá en preovulatorio luego del primer incremento drástico de la hormona luteinizante (LH) o pico de LH. Durante la vida de la hembra una pequeña proporción de folículos se convertirán en preovulatorios y por lo tanto, ovularán, mientras que el resto sufrirá atresia. El proceso de crecimiento y diferenciación desde los primeros estadios foliculares hasta la ovulación podría ser de hasta 60 días (Lussier et al., 1987). Los folículos de ≥ 2 mm de diámetro responden a los incrementos hormonales en circulación, especialmente de la hormona folículo-estimulante (FSH). Como esta hormona es liberada en pulsos que aumentan la concentración plasmática durante horas, los folículos responden a estos incrementos creciendo en grupos o cohortes, las cuales han sido llamadas ondas foliculares. Estas ondas de crecimiento folicular comienzan a una edad muy temprana y están presentes durante toda la vida del animal hasta que la reserva ovárica se extingue. Se ha documentado ondas foliculares en terneras desde las dos semanas luego del nacimiento hasta la pubertad (Adams et al., 1994; Evans et al., 1994a; Evans et al., 1994b).

Una vez que la hembra llega a la pubertad luego de la primera ovulación, las ondas foliculares pueden ocurrir 1, 2, 3 ó 4 veces durante el ciclo estral (Pierson and Ginther, 1984; Sirois and Fortune, 1988; Savio et al., 1991; Figueiredo et al., 1997; Bo et al., 2003; Adams et al., 2008). Es importante destacar que las ondas foliculares ocurren también en animales en gestación (Ginther et al., 1989; Taylor and Rajamahendran, 1991) y durante el posparto (Savio et al., 1990). Estas ondas de crecimiento folicular fueron postuladas inicialmente por Rajakoski (Rajakoski, 1960), luego de haber estudiado estructuras de ovarios provenientes de matadero. En la década de 1980, muchos laboratorios, principalmente de Estados Unidos comenzaron a publicar y confirmar la hipótesis a través de estudios seriales usando la ecografía como herramienta de visualización del ovario *in situ* (Pierson and Ginther, 1984; Savio et al., 1988; Sirois and Fortune, 1988; Savio et al., 1991). Se conoce los estadios foliculares tales como las fases de crecimiento, estática y de regresión en los folículos que regresan, mientras que el folículo que ovulará, pasará por la fase de crecimiento solamente (Ginther et al., 1996). A consecuencia del uso de la ecografía y la detección de la ovulación, se comenzó a hablar

de intervalo interovulatorios que representan la visión ecografía del ciclo estral (determinado por la detección de dos estros consecutivos). También se supo que una onda folicular comienza cuando una cohorte de folículos es reclutada por un pico de FSH (Adams et al., 1992) y que el número de folículos al tiempo de la iniciación de una onda folicular puede ser de 8 a 40 (Adams et al., 2008).

Ahora bien, todos estos estudios sobre ondas foliculares fueron hechos teniendo en cuenta folículos de 4 ó 5 mm de diámetro. Sin embargo, no fue sino hasta después del año 2000 en que se comenzó a estudiar la dinámica de los folículos <5 mm a través de la ecografía. Jaiswal y colaboradores (Jaiswal et al., 2004) publicaron la incidencia de un patrón de onda folicular en estos folículos pequeños. Sin embargo, en este estudio el número de folículos de cada animal y su relación con la reserva ovárica no fue el objetivo; y por ende, no fueron mencionados.

RESERVA OVÁRICA

Se mencionó al comienzo de este manuscrito que los estudios iniciales en anatomía y fisiología ovárica en relación con la dinámica folicular, número de folículos y la relación con la producción de embriones y fertilidad comenzaron alrededor de 1960 en bovinos. Sin embargo, hubo estudios publicados anteriormente investigando el número de folículos en mujeres (Block, 1952). Más recientemente se ha investigado el uso de la ecografía para estimar la reserva ovárica mediante el recuento de folículos antrales (RFA - antral follicular count en inglés, AFC) y la relación entre RFA y la fertilidad en humanos (Reuss et al., 1996; Scheffer et al., 1999). En laboratorios de fertilidad asistida en humanos usan la RFA para predecir la respuesta a tratamientos superovulatorios (Gibreel et al., 2009).

Es interesante que en la industria de la transferencia de embriones en ganado bovino siempre se ha aceptado un alto nivel de variación en las respuestas superovulatorias y por lo tanto del número total de embriones colectado y en muchos casos también en la calidad de los embriones (Monniaux et al., 1983). Si bien es consabido que hay muchos factores intrínsecos del animal y ambientales que interfieren con la respuesta a los tratamientos, aun no se ha mejorado dramáticamente la producción constante de embriones (Looney and Pryor, 2009). Esto ha ocurrido a pesar de los esfuerzos para controlar esos factores. Por ejemplo, eliminación del folículo dominante por diferentes métodos y sincronización de la onda folicular (Bo et al., 1995; Bergfelt et al., 1997; Baracaldo et al., 2000), además del tratamiento y manejo especiales que reciben

las donantes de embriones, no han sido suficientes para elevar o controlar efectivamente la producción embrionaria. En un trabajo de investigación se probaron dos hipótesis, una que establecía que el número de folículos reclutados en una onda está correlacionado con el número de folículos reclutados en ondas sucesivas y la otra hipótesis que establecía que la respuesta superestimuladora está relacionada al número intrínseco de folículos reclutados en una onda folicular (Singh et al., 2004). Los resultados encontrados en este trabajo sustentaron las hipótesis mencionadas. El número de folículos de 2 ó más mm de diámetro al comienzo de la superovulación estuvo correlacionado con el número de folículos estimulados al final del tratamiento. Si bien no se hizo hincapié en la importancia del número intrínseco de folículos en la hembra, sino del número al comienzo de una onda, este trabajo pudo bien haber sido usado como base de sustento para confirmar los estudios realizados en los años 60 sobre la variabilidad de RFA entre individuos.

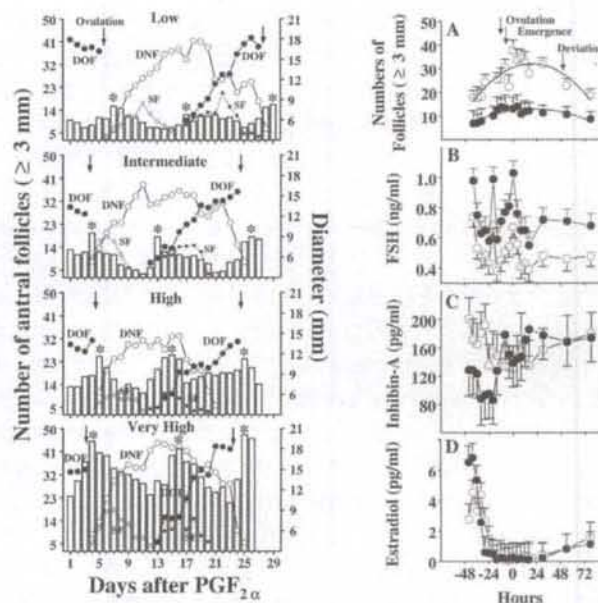


Figura 1. Características foliculares y hormonales de vaquillonas Holstein (Burns et al., 2005). Luego de tan solo un año apareció la primera publicación proveniente de un laboratorio estadounidense confirmando los resultados de los trabajos de Erickson (1960) sobre la reserva ovárica. Burns y colaboradores (2005) llevaron a cabo experimentos en ganado lechero para investigar la variación en el número de folículos de ≥ 3 mm de diámetro durante las ondas foliculares y para determinar si la variabilidad en el RFA estaba relacionada con cambios en hormonas o factores que regulan la foliculogénesis (Figura 1 (Burns et al., 2005)). Ellos hipotetizaron que el recuento folicular en las diferentes ondas es tan variable dentro de un individuo como los es entre individuos.



El hallazgo más importante de este estudio fue que el número de folículos de ≥ 3 mm de diámetro fue altamente repetible en el mismo animal (repetitividad = 0.95). La repetitividad fue definida como aquella proporción de la varianza total en el número de folículos que puede ser atribuida a la varianza del animal. Esto podría ser usado para clarificar la razón por la cual el recuento folicular fue similar tanto para vaquillonas como para las vacas usadas en el mismo.

Para finalizar, el recuento de folículos siendo invariable en un mismo individuo puede quizás explicar la constante regresión y ovulación de folículos durante muchos años sin extinguirse tempranamente. Esto quiere decir que una vaca con un número alto de folículos puede darse el lujo de reclutar un gran número de folículos al comienzo de las ondas foliculares, mientras que una vaca con un bajo número de folículos reclutara menos folículos en una onda para no terminarlos en unos pocos ciclos.

CARACTERÍSTICAS DE LOS DIFERENTES FENOTIPOS OVÁRICOS.

Diferencias hormonales y anatómicas.

Cuando se llevó a cabo las primeras investigaciones teniendo en cuenta este fenotipo ovárico, se investigó las diferentes características de los animales con un determinado fenotipo. Un hallazgo importante que también caracterizó el fenotipo ovárico fue la concentración plasmática de FSH, la cual fue inversamente proporcional al número de folículos (Burns et al., 2005). Esto fue más tarde confirmado por otro estudio en el mismo laboratorio (Ireland et al., 2007) (Figura 1). Sin embargo, no hubo diferencias en el tiempo de ovulación, emergencia de la primera onda folicular, desviación y desarrollo del folículo dominante de la primera onda folicular (Burns et al., 2005). Las concentraciones de inhibina y estradiol permanecieron sin grandes cambios sin diferencias entre fenotipos de vacas con alto o bajo número de folículos (Figura 1). Estos resultados llevaron a la interrogación de cómo se manejaría el eje hipotálamo-hipofiso-gonadal y cómo funciona el mecanismo compensatorio de reclutamiento folicular. Esto es especialmente importante teniendo en cuenta que las concentraciones plasmáticas de FSH, que son netamente diferentes entre fenotipos, son inversamente asociadas al número de folículos en los ovarios. Esto llevo a la hipótesis que establece que la diferencia en las concentraciones de FSH de animales con alto o bajo número de folículos se debe a la capacidad de la hipófisis para producir gonadotrofinas (Mossa et al., 2010b). Sin embargo, cuando esta hipótesis fue probada en vacas ovariectomizadas en las que su hipófisis fue estimulada con GnRH and fluido folicular, no se encontraron diferencias en las concentraciones

de gonadotrofinas luego de las ovariectomías, de la administración de GnRH o de fluido folicular (Mossa et al., 2010b). Por lo tanto, la hipótesis no fue sustentada lo cual confirmó que la principal diferencia reside en los ovarios. Es necesario advertir en este momento que la relación entre la hormona luteinizante (LH) y el recuento folicular es también negativa (Jimenez-Krassel et al., 2009), mientras que esto ocurre también con las concentraciones plasmáticas de progesterona, en la que las vacas con pocos folículos tienen altas concentraciones de LH en circulación con bajas concentraciones de progesterona que las vacas con un alto número de folículos (Jimenez-Krassel et al., 2009). Esto es una diferencia importante respecto a lo que ocurre con las concentraciones de FSH y producción de estrógenos por parte del ovario. Parecería entonces que habría un problema en la cadena de reacciones intracelulares en las que intervienen diferentes enzimas. Se sospechaba que la diferencia estaba en que los tipos celulares diferentes granulosa y teca funcionaban de forma diferente según el fenotipo ovárico. Por otro lado, se podría pensar que animales con bajo recuento de folículos tendrían altas cantidades de testosterona producida por las células tecales. Luego se confirmó que la producción de andrógenos está asociada positivamente con el número de folículos (Mossa et al., 2010a). Este hecho fue explicado por la abundancia de CYP17A1 ARNm que codifica a la enzima citocromo P450, la cual participa en la producción de andrógenos, la baja respuesta de las células tecales a la LH y las bajas concentraciones androgénicas intrafoliculares en los folículos preovulatorios, con bajos niveles de testosterona plasmática en animales con un bajo número de folículos en comparación con animales con un alto número de folículos. La respuesta de células tecales a LH medida en producción de progesterona y la producción basal de progesterona fue hasta un 80% menor cuando las células luteinizadas de la granulosa (folículo dominante) y células luteales de animales con bajo número de folículos en comparación con animales con un número alto de folículos (Jimenez-Krassel et al., 2009). Esto ocurrió a pesar de que el número de receptores de LH era el mismo. Por lo que se estimó que habría un problema en el sistema de señal celular.

Animales con un recuento folicular bajo tienen una reducida capacidad luteal para producir progesterona basal, inducida por LH o por 25 HO-colesterol o de células de la granulosa para producir progesterona con reducida cantidad de STAR y ARNm para STAR y receptores de LH en el CL sumado a no cambio en el espesor de endometrio durante el ciclo estral (Jimenez-Krassel et al., 2009)

En el caso de la baja producción de progesterona basal y luego del tratamiento con LH en las hembras con un número bajo de folículos, tiene importancia ya que puede afectar otros órganos del aparato reproductivo. Esto conllevaría problemas de concentraciones subluteales de progesterona e infertilidad. Esto último estaría asociado a una diferencia en el espesor del endometrio (Figura 2)

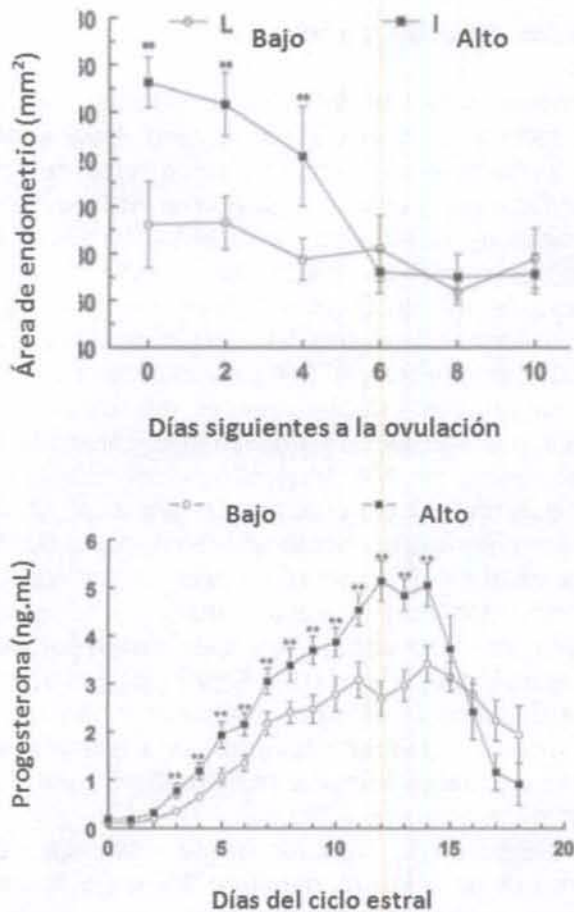


Figura 2. Alteraciones en espesor del endometrio y concentraciones de progesterona en vaquillonas con bajo (Low) o alto (High) recuento folicular (Jimenez-Krassel et al., 2009).

Concentraciones plasmáticas de hormona antimulleriana (AMH).

La hormona antimulleriana es una glicoproteína producida por las células de Sertoli. Fue descubierta por su importante función de causar la regresión de los túbulos paramesonéfricos en fetos machos (Jost, 1947). Esto ocurre también en las hembras mellizas que comparten la gestación con fetos del sexo opuesto. AMH pertenece a la familia del factor de crecimiento transformante (TGF)- β , es secretada por

las gónadas no solo por los testículos sino también por los ovarios. Recientemente, se descubrió que la AMH es secretada por folículos antrales en crecimiento, en especial aquellos que tienen desde 2 ó 3 hasta 7 mm de diámetro (Monniaux et al., 2010a). Las hembras bovinas podrían separarse en tres grupos diferentes de acuerdo con su concentración plasmática de AMH, 0-100, 100-200 y >200 pg/mL (Monniaux et al., 2010a), lo que podría corresponder a animales con bajo, medio o alto número de folículos. Esto ha tenido una correlación con el número de embriones producido (Rico et al., 2009; Monniaux et al., 2010b) y con el número de folículos grandes previos a la colección de ovocitos por vacas lecheras donantes (Rico et al., 2012), técnica conocida por su sigla en inglés OPU (ovum pick-up).

DIFERENCIAS ANATÓMICAS (NÚMERO DE FOLÍCULOS).

Tamaño del ovario

Se ha investigado la relación entre tamaño de los ovarios y el número de folículos o las concentraciones hormonales en vacas de cría (Cushman et al., 2009) y de producción lechera (Mossa et al., 2012). Se encontró que el peso de los ovarios al nacimiento se correlaciona con su peso al nacimiento de terneras de cría (Cushman et al., 2009). Además hubo una gran variación en el peso y RFA de los ovarios, parámetros que estuvieron positivamente correlacionados

Número de folículos

Como se dijo anteriormente, existe una gran variación en el número de folículos entre animales. En general la mayoría de los estudios en bovinos se han realizado considerando folículos que tuvieran un diámetro igual o mayor a 3 mm (Burns et al., 2005; Cushman et al., 2009; Ireland et al., 2011; Evans et al., 2012). Ejemplos de la distribución e vacas o vaquillonas con diferente número de folículos en sus ovarios se muestran en las Figura 3 para datos correspondientes a vacas lecheras en lactancia en Irlanda (Mossa et al., 2012) y en Nueva Zelanda (Martinez et al., 2013) y para vaquillonas de cría en Estados Unidos (Cushman et al., 2009), respectivamente. Asimismo, estimación del RFA se realizó en otra categoría de vacas lecheras en lactancia. Esta vez la proporción de vacas con diferentes RFA fue determinada en vacas diagnosticadas como no preñadas en la ecografía al final de la estación reproductiva (Sanderson et al., 2013). Se puede apreciar que la curva es más sesgada a la izquierda (Figura 4). El peso al nacimiento tiene una pequeña influencia en el número de folículos de la corteza ovárica. Se encontró también un efecto



cuadrático de la edad del animal en el RFA (Cushman et al., 2009). Aparentemente este efecto sería debido a que la reserva ovárica va disminuyendo con el tiempo.

Figura 3. Proporción de vacas lecheras (A - Mossa et al., 2012; B - Martínez et al., 2013) y vaquillonas de cría (Cushman et al., 2009) con diferente recuento folicular.

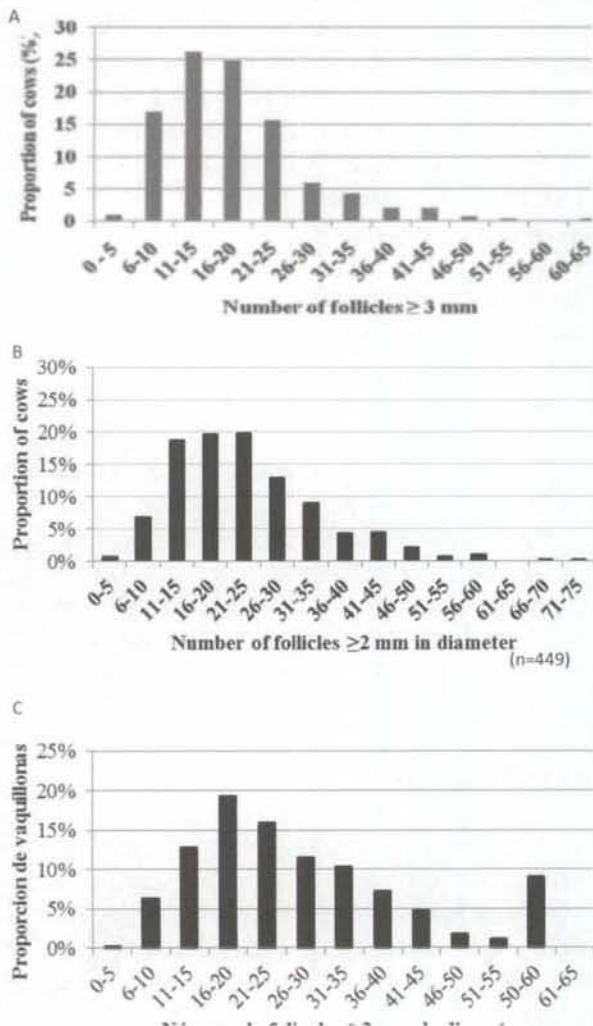
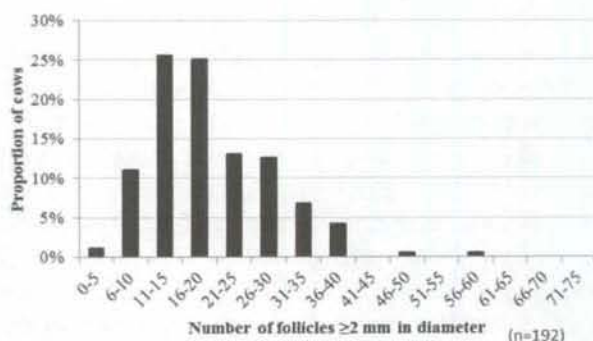


Figura 4. Proporción de vacas lecheras (Sanderson et al., 2013) con diferente recuento folicular.



ESTUDIOS ACTUALES SOBRE RESERVA OVÁRICA Y SU RELACIÓN CON LA FERTILIDAD DE LA HEMBRA BOVINA.

Relación entre el peso/tamaño de los ovarios sobre la fertilidad de la hembra. Una moderada correlación ($r=0.37$) se publicó entre el área ovárica (medida por ecografía) y el RFA (Mossa et al., 2012), mientras que se incrementó con el número de lactancias y de partos (Mossa et al., 2012).

Relación entre RFA y fertilidad

La cuenta total de folículos o RFA está asociada a la fertilidad en el Ganado bovino. Hoy, existen tres publicaciones que confirman esta relación en diferentes puntos y categorías de animales. Inicialmente, la relación entre RFA y fertilidad fue investigada por un grupo de investigadores en ganado de cría en Estados Unidos. Cushman et al. (2009) encontraron una asociación positiva entre las tasas de preñez y el RFA en vaquillonas de razas de cría en tres establecimientos diferentes. Estas vaquillonas habían sido previamente categorizadas de acuerdo a su RFA determinada por ecografía al azar durante el ciclo estral (Cushman et al., 2009). Tampoco se había encontrado diferencias de RFA entre los distintos estadios del ciclo estral en previos experimentos (Cushman et al., 2009). Más tarde, otra publicación demostró un resultado similar en vacas lecheras (Mossa et al., 2012). El principal hallazgo de estos dos laboratorios fue que vacas o vaquillonas con una RFA pequeña tuvieron una fertilidad más baja que aquellos animales con alta RFA (Cushman et al., 2009; Mossa et al., 2012).

En el caso de las vaquillonas de cría, hubo una diferencia de aproximadamente 9% en porcentaje de preñez entre aquellas que tenían un número de folículos ≤ 15 y aquellas con una RFA de ≥ 25 folículos. No datos de vaquillonas con un número intermedio de folículos fueron dados a conocer. En el caso de las vacas lecheras en lactancia (Tabla 1), la preñez al final de la temporada de servicio tendió a ser diferente entre los grupos con baja (84%), media (88%) o alta (94%) RFA (Mossa et al., 2012). En otro estudio en Nueva Zelanda, las tasa de preñez al final del servicio fueron 79.6, 79.4 y 90.4% para los grupos de vacas lecheras con baja, media y alta RFA, las cuales fueron significativamente diferentes (Tabla 2). No obstante una de las mayores diferencias de este trabajo fue el diseño experimental. Las ecografías y los datos de fertilidad de las vacas provinieron de 4 rodeos lecheros de diferente ubicación y razas pero con similar manejo nutricional. El estudio irlandés de Mossa y colaboradores (Mossa et al., 2012) se

llevó a cabo en un solo establecimiento con todas las vacas en lactancia disponibles durante el año. El trabajo neozelandés se realizó en una sola estación de servicio, lo mismo que el de vaquillonas de cría en Estados Unidos. En el estudio neozelandés, los grupos de vacas fueron elegidos al azar sin la intervención de los investigadores. Estos grupos fueron compuestos por un grupo de vacas no detectadas en estro y por otro grupo de vacas detectadas en estro y por lo tanto inseminadas antes de la visita para hacer la ecografía. Todas las vacas fueron revisadas por tacto y ecografía, que se usaron para diagnosticar patologías y ovulación a través de la localización del o los cuerpo lúteo(s) (CL). A diferencia de otros estudios, se tuvo en cuenta estas variables y los tratamientos recibidos por los animales en el análisis de los datos.

Tabla 1. Características reproductivas al momento de la ecografía y desempeño reproductivo en vacas lecheras con alto (≥ 25), intermedio (16 a 24) y bajo (≤ 15) números de folículos ≥ 3 mm de diámetro (cuenta o recuento de folículos antrales, AFC). (Mossa et al., 2012).

Variable	AFC			SEM ¹	P-value ²
	Bajo	Intermedia	Alta		
Características de la ecografía					
Numero de vacas	126	122	58		
Cuenta de folículos antrales	11.4 ^a	19.6 ^b	33.2 ^c	0.45	<0.0001
Numero de lactancias	1.9 ^a	2.1 ^a	2.6 ^b	0.13	0.004
DIM (días en lactancia)	71.5	71.1	69.5	1.80	NS
Propiedades reproductivas					
Tasa de preñez al primer servicio (%)	32 ^a	45 ^a	38 ^{ab}		0.12
Tasa de preñez global (%)	84 ^a	88 ^{ab}	94 ^b		0.06
Tasa de inseminación hasta los 21-d (%)	71	81	83		0.09
Intervalo medianode parto a concepción (d)	114 ^a	100 ^b	100 ^b		0.09
Número global de servicios	2.7 ^a	2.3 ^a	2.4 ^{ab}		0.09

^{a-c}Valores dentro de una misma fila sin superíndice en común difieren ($P < 0.05$).

¹SEM = pooled SEM.

²Nivel of significancia (P-value) está basado en el modelo de efectos fijos para el intervalo parto-concepción, análisis de supervivencia para el intervalo parto- concepción, regresión ordinal para el numero de servicios, y regresión logística para las características remanentes. Los cálculos de las variables correspondientes a proporciones se basan en los resultados de razón o cociente de probabilidades (odds ratio), mientras que las medias mínimas cuadradas (least squares means) están dadas para las variables remanentes.

Tabla 2. Intervalos promedio (\pm SEM) desde el parto a la primera inseminación, a concepción por AI, a la concepción en general, y a la ecografía, y porcentajes de vacas inseminadas durante las primeras 3 semanas del periodo de servicio, numero de servicios por preñez y tasas de preñez a la primo-inseminación, al final de la IA, al final del servicio por AI o natural, y de parición en vacas categorizadas como de Baja, Media o Alta cuenta de folículos (AFC).

Variable	N	Número de folículos ≥ 2 mm de diámetro (AFC)			Total
		0-20	21-30	>30	
		Low	Medium	High	
Numero de vacas		206	148	96	450
AFC		14.4 \pm 3.7	24.7 \pm 2.9	39.6 \pm 7.9	
Intervalos desde el parto a					
Primera IA (d)	411	77.2 \pm 1.4	76.6 \pm 1.9	72.7 \pm 2.0	76.0 \pm 1.0
Concepción a la IA (d)	251	83.6 \pm 1.5 ^a	81.4 \pm 1.8 ^{ab}	76.3 \pm 2.2 ^b	81.3 \pm 1.1
Concepción (d)	331	86.7 \pm 1.5 ^a	85.6 \pm 2.2 ^{ab}	80.0 \pm 2.5 ^b	84.9 \pm 1.1
Ecografía (d)	441	80.4 \pm 1.3	82.4 \pm 1.6	78.2 \pm 1.9	80.6 \pm 0.9
Tasa de inseminación durante las 3 primeras semanas de servicio					
No. de IA por preñez		37.7	39.2	42.7	39.3
		1.33 \pm 0.53	1.31 \pm 0.63	1.22 \pm 0.55	
Preñez					
A la primera IA (%)	448	48.5 ^a	47.3 ^a	57.3 ^b	50
Por IA (%)	450	68.5 ^{ab}	60.8 ^a	71.4 ^b	66.2
Global (%)	450	80.6 ^a	76.4 ^a	83.3 ^b	79.8
Tasa de partos (%)	450	67 ^a	62.8 ^b	72.9 ^b	66.9

^{a-b} P<0.05

Dentro de las vacas que fueron o no detectadas en estro, 94.6 y 72.4% tenían al menos un CL a la ecografía, mientras que 5.4 and 23.7% no lo tenían, respectivamente. En un primer análisis en el cual los datos del número de folículos ováricos se lo uso como dato continuo, esto es decir sin categorización en grupos de vacas. El RFA tendió a estar negativamente asociada con el intervalo parto-primera IA ($P=0.04$). El número de vacas detectadas en estro durante las primeras tres semanas del servicio (3-wk SR; $P=0.0103$) y la tasa de concepción al primer servicio ($P=0.02007$) estuvieron positivamente asociadas con el número de folículos. El porcentaje de vacas que concibieron durante las primeras 6 semanas de servicio tendió (6-wk PR; $P=0.05215$) a estar positivamente correlacionado con RFA. Luego que las vacas fueron agrupadas de acuerdo con su número de folículos (bajo, medio o alto RFA). La presencia de CL (92.3 vs. 80.6%), tasa de concepción a la primera inseminación (66.5 vs. 45.2%) y la tasa de parición (CR; 79.9 vs. 64.0%) fueron significativamente más altas ($P<0.02$), la 3-wk SR (45.2 vs. 32.8%) y la tasa de preñez a las 6 semanas (79.1 vs. 67.8%) tendieron a ser más altas ($P=0.0807$) en vacas con alto RFA que en vacas con bajo RFA.



Con la excepción de la tasa de IA durante las 3 primeras semanas del servicio ($P=0.32$; 45.2 vs.37.9) y la 6-wk PR ($P<0.07$); 62.4%), todas las variables estudiadas fueron mayores en las vacas de alta que en el las vacas de intermedio RFA (92.3 vs 45.2; 84.8; 66.5 vs 49.6; 79.1 vs. 62.4%; 90.3 vs 85.879.4; and 79.4 vs 63.4% para la tasa de IA durante las 3 primeras semanas de servicio, CL, tasa de preñez a la primera AI, a las 6 semanas, global (a las 12 semanas) y tasa de parición, respectivamente. No hubo diferencia ($P>0.1$) en la tasa de concepción luego del tratamiento con PGF2 α (4243/9394; 45.27%) o con Ovsynch+progesterona. En este último caso no hubo diferencias si las vacas tenían (27/53; 50.9%) o no CL (33/65; 50.8%).

En este trabajo se concluyó que el número de folículos está asociado con un intervalo posparto más corto y con una fertilidad más alta. Quizás el hecho de que las vacas con alto RFA fueron las superiores en fertilidad con respecto a las de medio o bajo RFA, sea la mayor diferencia con los otros trabajos. Esta investigación confirmó la asociación entre el fenotipo ovárico y la fertilidad en vacas lecheras en vacas Holstein-Friesian y Jersey en el sistema pastoril de Nueva Zelanda. Dada la necesidad de mantener un estricto intervalo entre partos de 12 meses en un sistema de servicios estacional, el fenotipo de RFA puede ser usado como una herramienta importante en la selección de vacas con alta fertilidad y el rechazo de vacas con baja fertilidad. Esta sobre entendido que otros factores y rasgos de producción tienen que ser observados. Given the necessity to maintain a 12-mo calving interval in the seasonal system, RFA phenotype may be an important tool for selection of high fertility cows in New Zealand.

RFA en vacas lecheras vacías al final del periodo de servicio

El RFA encontrado en vacas de Nueva Zelanda (Martinez et al., 2013) fue también estimado por dos métodos (Sanderson et al., 2013). Esta fue la primera vez en que el RFA fue realizado en vacas vacías. Hasta este momento se desconocía cual era la proporción de vacas con diferente RFA en esta categoría. Este estudio fue también el primero que se publicó comparando un nuevo método (*in situ*) para estimación directa y rápida de la reserva ovárica de un animal. Este estudio sirvió para evaluar si la estimación inmediata del RFA es tan efectiva como la determinación de RFA en el laboratorio, el cual es el método estándar para el RFA. Se trabajó con la hipótesis de que hay una correlación alta entre los dos métodos y que el uso del método *in situ* puede permitir el rechazo de vacas con baja fertilidad expresada a través del

fenotipo ovárico. Para ello se realizó ecografía de los ovarios de 355 vacas diagnosticadas como vacías a la ecografía al final del periodo de servicio. El estudio se hizo en dos años (Año 1: 4 tambos; $n=192$ vacas; Año 2: 3 tambos; $n=163$ vacas). El primer método de evaluación del RFA (*in situ*) ocurrió al momento de la ecografía de los ovarios, mediante un sistema de puntuación (1=bajo, 1.5=medio-bajo, 2=medio, 2.5=medio-alto, 3=alto) por lo cual es más rápido y práctico. Sin embargo, puede ser menos preciso en la determinación del RFA con exactitud. El segundo método de laboratorio incluyó la medición y el conteo individual de los folículos en videos de las ecografías en el laboratorio de análisis de imágenes. Se encontró una alta correlación entre los métodos para el primer ($r=0.55$; $P<0.0001$) y el segundo año ($r=0.68$; $P<0.0001$) en que se llevó a cabo el estudio. En el primer año, el RFA de laboratorio clasificó una proporción de 24.9, 40.7 and 34.4% de vacas con bajo, medio y alto RFA. Por lo tanto esta puede ser importante información para estimar y diagnosticar problemas de manejo nutricional, sanitario o reproductivo. Además, la alta correlación entre los dos métodos demuestra que la RFA puede ser usada como método práctico de selección de vacas de alta fertilidad o rechazo de vacas con una probabilidad de preñez baja.

Heredabilidad

Aunque aún no se ha encontrado el o los genes que codifican para este carácter, hay datos preliminares que sugieren una alta heredabilidad de la reserva ovárica. Walsh y colaboradores (Walsh et al., 2012) estimaron una heredabilidad del RFA (\pm SE) de 0.31 ± 0.14 . Como se puede apreciar es un rasgo de alta heredabilidad cuando se lo compara con los caracteres que representan a la fertilidad, los cuales son generalmente binomiales. Por ejemplo, los estimadores de heredabilidad para la preñez de vaquillonas fue de $.138 \pm .08$, mientras que para la circunferencia escrotal fue de $.714 \pm .132$ en la raza Hereford (Evans et al., 1999). Ejemplos en ganado lechero son las heredabilidades estimadas para la tasa de preñez al primer servicio (0.14) o para el intervalo al primer servicio (0.13) que podrían considerarse bajas, mientras que para la producción lechera fue de 0.50, la que podría ser considerada alta (Royal et al., 2002). Sin embargo, tradicionalmente se ha encontrado más bajas heredabilidades para caracteres reproductivos (dicotómicos), tal es el caso del intervalo entre partos con una heredabilidad de 0.04 y .061 para Holstein y Jersey, respectivamente (Campos et al., 1994). Estos son en general los muy bajos valores de heredabilidad de los caracteres



reproductivos. Por lo que usando medidas tales como tamaño de la reserva ovárica puede ayudar al progreso genético anual de una mejor manera comparada con los caracteres tradicionales.

Factores que pueden afectar el fenotipo ovárico

Aunque todavía es muy prematuro para establecer conclusiones, se ha visto que este fenotipo puede ser afectado por la nutrición y por enfermedad. Esto no es una sorpresa ya que la mayoría de los genes son regularmente afectados por estos dos componentes importantes en la producción animal. Esto está muy relacionado con el ambiente materno previo al nacimiento del animal que va a tener un número fijo de ovocitos en sus ovarios. Se investigó el efecto de la mastitis clínica o subclínica, medida a través del recuento celular somático (RCS) medido a diferentes intervalos durante la gestación. Se consideró como alto RCS un recuento de >200.000 células. Además se usó la AMH como indicador de la reserva ovárica. Se encontró que la infección crónica durante la preñez disminuye el tamaño de la reserva ovárica. Esto tiene importancia ya que derivaría en una menor fertilidad en las hijas de las vacas afectadas (Evans et al., 2012). El otro aspecto importante es la nutrición de las vacas madres. La restricción de la nutrición materna durante el primer trimestre de la gestación (60% del mantenimiento) provocó que el RFA y las concentraciones plasmáticas de AMH fueran un 60% menor en terneras nacidas de las vacas restringidas en comparación con las vacas controles. Pero no sólo el aparato reproductivo se ve afectado, sino también el sistema cardiovascular, principalmente una aorta de un tamaño mayor y una presión arterial incrementada (Mossa et al., 2013).

Utilidad del fenotipo ovárico

La utilidad práctica que se le puede dar directamente es en la industria de la transferencia de embriones. Mediante la detección de vacas con alto, medio o bajo RFA puede ayudar a no sólo conocer la variabilidad individual de una donante, sino también puede ayudar a tener en cuenta este fenotipo en el chequeo previo a los animales para ser usados como donantes de embriones. Este fenotipo también podría ser usado para la selección de vacas más fértiles, especialmente si se encuentra un marcador biológico o genético relacionado.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, G. P., A. C. O. Evans, and N. C. Rawlings. 1994. Follicular waves and circulating gonadotrophins in 8-month-old prepubertal heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 100: 27-33.
- Adams, G. P., R. Jaiswal, J. Singh, and P. Malhi. 2008. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology* 69: 72-80.
- Adams, G. P., R. L. Matteri, J. P. Kastelic, J. C. Ko, and O. J. Ginther. 1992. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J Reprod Fertil* 94: 177-188.
- Baracaldo, M. I., M. F. Martinez, G. P. Adams, and R. J. Mapletoft. 2000. Superovulatory response following transvaginal follicle ablation in cattle. *Theriogenology* 53: 1239-1250.
- Bergfelt, D. R., G. A. Bo, R. J. Mapletoft, and G. P. Adams. 1997. Superovulatory response following ablation-induced follicular wave emergence at random stages of the oestrous cycle in cattle. *Animal Reproduction Science* 49: 1-12.
- Block, E. 1952. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women; variations at different ages. *Acta Anat. (Basel)* 14: 108-123.
- Bo, G. A., G. P. Adams, R. A. Pierson, and R. J. Mapletoft. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 43: 31-40.
- Bo, G. A., P. S. Baruselli, and M. F. Martinez. 2003. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 78: 307-326.
- Burns, D. S., F. Jimenez-Krassel, J. L. Ireland, P. G. Knight, and J. J. Ireland. 2005. Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. *Biol Reprod* 73: 54-62.
- Campos, M. S., C. J. Wilcox, C. M. Becerril, and A. Diz. 1994. Genetic parameters for yield and reproductive traits of Holstein and Jersey cattle in Florida. *Journal of dairy science* 77: 867-873.
- Cushman, R. A. et al. 2009. Evaluation of antral follicle count and ovarian morphology in crossbred beef cows: investigation of influence of stage of the estrous cycle, age, and birth weight. *J Anim Sci* 87: 1971-1980.
- Erickson, B. H. 1966. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. *J. Anim. Sci.* 25: 800-805.
- Evans, A. C. et al. 2012. Effects of maternal environment during gestation on ovarian



folliculogenesis and consequences for fertility in bovine offspring. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* 47 Suppl 4: 31-37.

- Evans, A. C. O., G. P. Adams, and N. C. Rawling. 1994a. Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age. *Journal of Reproduction and Fertility* 102: 463-470.
- Evans, A. C. O., G. P. Adams, and N. C. Rawlings. 1994b. Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepubertal heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 100: 187-194.
- Evans, J., B. Golden, R. Bourdon, and K. Long. 1999. Additive genetic relationships between heifer pregnancy and scrotal circumference in Hereford cattle. *JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE* 77: 2621-2628.
- Figueiredo, R. A., C. M. Barros, O. L. Pinheiro, and J. M. P. Soler. 1997. Ovarian follicular dynamics in nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Theriogenology* 47: 1489-1505.
- Gibreel, A., A. Maheshwari, S. Bhattacharya, and N. P. Johnson. 2009. Ultrasound tests of ovarian reserve; A systematic review of accuracy in predicting fertility outcomes. *Human Fertility* 12: 95-106.
- Ginther, O. J., L. Knopf, and J. P. Kastelic. 1989. Ovarian follicular dynamics in heifers during early pregnancy. *Biol Reprod* 41: 247-254.
- Ginther, O. J., M. C. Wiltbank, P. M. Fricke, J. R. Gibbons, and K. Kot. 1996. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.* 55: 1187-1194.
- Hunter, J. 1787. An Experiment to Determine the Effect of Extirpating One Ovary upon the Number of Young Produced. By John Hunter, Esq. *F. R. S. Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 77: 233-239.
- Ireland, J. J. et al. 2011. Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Mullerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. *Reprod Fertil Dev* 23: 1-14.
- Ireland, J. J. et al. 2007. Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. *Hum. Reprod.* 22: 1687-1695.
- Jaiswal, R. S., J. Singh, and G. P. Adams. 2004. Developmental pattern of small antral follicles in the bovine ovary. *Biol Reprod* 71: 1244-1251.
- Jimenez-Krassel, F. et al. 2009. Evidence that high variation in ovarian reserves of healthy young adults has a negative impact on the corpus luteum and endometrium during estrous cycles in cattle. *Biol Reprod* 80: 1272-1281.
- Looney, C. R., and J. H. Pryor. 2009. Practical applications of new research information in the practice of bovine embryo transfer. *Reproduction, Fertility and Development* 22: 145-150.
- Martinez, M. F. et al. 2013. Antral follicular count (AFC) and fertility in New Zealand dairy cows. *Proceed. 46th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction, Montreal, QC, Canada.*: in press.
- Monniaux, D. et al. 2010a. Anti-Mullerian hormone: a predictive marker of embryo production in cattle? *Reprod Fertil Dev* 22: 1083-1091.
- Monniaux, D. et al. 2010b. Anti-Müllerian hormone: a predictive marker of embryo production in cattle? *Reproduction, Fertility and Development* 22: 1083-1091.
- Monniaux, D., D. Chupin, and J. Saumande. 1983. Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology* 19: 55-81.
- Mossa, F. et al. 2013. Maternal Undernutrition in Cows Impairs Ovarian and Cardiovascular Systems in Their Offspring. *Biology of Reproduction* 88: 92, 91-99.
- Mossa, F. et al. 2010a. Evidence that high variation in antral follicle count during follicular waves is linked to alterations in ovarian androgen production in cattle. *Reproduction* 140: 713-720.
- Mossa, F. et al. 2010b. Inherent capacity of the pituitary gland to produce gonadotropins is not influenced by the number of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter in cattle. *Reproduction, Fertility and Development* 22: 550-557.
- Mossa, F. et al. 2012. Low numbers of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. *Journal of dairy science* 95: 2355-2361.
- Pierson, R. A., and O. J. Ginther. 1984. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology* 21: 495-504.
- Rajakoski, E. 1960. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical and left-right variations. *Acta Endocrinol*: 1-68.
- Reuss, M. L., J. Kline, R. Santos, B. Levin, and I. Timor-Tritsch. 1996. Age and the ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 174: 624-627.
- Rico, C. et al. 2012. Determination of anti-Müllerian hormone concentrations in blood as a tool to select Holstein donor cows for embryo production: from the laboratory to the farm. *Reproduction, Fertility and Development* 24: 932-944.
- Rico, C. et al. 2009. Anti-mullerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict



superovulatory responses in the cow. *Biol Reprod* 80: 50-59.

- Royal, M. D., A. P. F. Flint, and J. A. Woolliams. 2002. Genetic and Phenotypic Relationships Among Endocrine and Traditional Fertility Traits and Production Traits in Holstein-Friesian Dairy Cows. *Journal of dairy science* 85: 958-967.
- Sanderson, N. et al. 2013. Practical consideration of ovarian follicular dynamics to enhance reproductive efficiency in dairy cows. In: A. V. Association (ed.) *Australian Cattle Veterinarians 2013 Conference*. p 8. Australian Cattle Darwin, Australia.
- Savio, J. D., M. P. Boland, N. Hynes, and J. F. Roche. 1990. Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 88: 569-579.
- Savio, J. D., H. Bongers, M. Drost, M. C. Lucy, and W. W. Thatcher. 1991. Follicular dynamics and superovulatory response in Holstein cows treated with FSH-P in different endocrine states. *Theriogenology* 35: 915-929.
- Savio, J. D., L. Keenan, M. P. Boland, and J. F. Roche. 1988. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 83: 663-671.

• Scheffer, G. J. et al. 1999. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. *Fertility and Sterility* 72: 845-851.

• Sirois, J., and J. E. Fortune. 1988. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biology of Reproduction* 39: 308-317.

• Taylor, C., and R. Rajamahendran. 1991. Follicular Dynamics and Corpus Luteum Growth and Function in Pregnant Versus Nonpregnant Dairy Cows. *Journal of dairy science* 74: 115-123.

• Walsh, S. W. et al. 2012. Evidence that total number of ovarian follicles >3 mm in diameter is moderately heritable in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals* 47: 416-613.