

DURACIÓN DEL CICLO ESTRAL Y DINÁMICA OVÁRICA EN VAQUILLAS DE DOBLE PROPÓSITO TRATADAS CON OXITOCINA EN EL TRÓPICO

Length of the estrous cycle and ovary dynamics in dual purpose heifers treated with oxytocin in the tropics

C Luna-Palomera ✉, JA Ramírez-Godínez, FA Rodríguez-Almeida, J Gutiérrez-Alderete

(CLP)(JARG)(FARA)(JGA) Facultad de Zootecnia de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Km. 1. Periférico Fco. R. Almada, Chihuahua, Chihuahua, México. CP 31031. Tel. (614) 4340303 Fax: (614) 4340345. cluna50@hotmail.com, dr_cluna@yahoo.com.mx.

Nota recibida: 07 de febrero de 2006, **aceptada:** 30 de marzo de 2007

RESUMEN. Se evaluó la aplicación de 20 UI/d de oxitocina (n=5) o agua salina (n=5) sobre el ciclo estral, dinámica ovárica y concentraciones de progesterona en vaquillas. El desarrollo folicular fue monitoreado por ultrasonido transrectal durante un ciclo estral. Las concentraciones de progesterona en la fase luteal intermedia fueron diferentes (P <0.08), con posibles efectos en la viabilidad embrionaria y el número de folículos en la primera y segunda onda folicular.

Palabras clave: Foliculo ovulatorio, ultrasonografía, ondas foliculares.

ABSTRACT. The application of 20 IU/d of oxytocin (n=5) or saline water (n=5) to heifers was evaluated with respect to the estrous cycle, the ovary dynamics and the concentration of progesterone. Follicular development was monitored by transrectal ultrasound during one estrous cycle. The concentration of progesterone in the middle stage varied (P <0.08), with possible effects in the embryonic survival and the number of follicles in the first and second follicular waves.

Key words: Ovulatory follicle, ultrasonography, follicular waves.

INTRODUCCIÓN

La práctica de inyectar oxitocina (OT) puede descompensar la homeostasis con que se regulan procesos fisiológicos reproductivos tales como la dinámica ovárica y el ciclo estral en bovinos.

En los sistemas tropicales de doble propósito, muchos productores están aplicando OT bajo ordeño mecánico o manual y durante toda la lactancia a sus vacas, para mejorar la eyección de la leche e incrementar la cantidad de leche vendible (Villa-Godoy A, González-Padilla E, Ortíz-Díaz R 2003. Oxitocina y somatotropina como método para incrementar la producción en ganado de trópico. En: memorias del XVII Congreso Nacional de Buiatría. Villahermosa, Tabasco, México; Aguilar-Cabrales JA 2004. Agroinforme. Soluciones para el campo de Tabasco 2: 9-12), sin conocer si su uso puede alterar la dinámica ovárica y el ciclo estral.

Existen algunos estudios en vaquillas en los que se ha evaluado el uso de dosis altas de OT (≥ 50 UI), reportando reducción en la duración del ciclo estral (Armstrong DT, Hansel W 1959. J Dairy Sci

42: 533-542; Hansel W, Wagner WC 1960. J Dairy Sci 43: 796-805). Se ha demostrado (Tallam SK, Walton JS, Johnson WH 2000a. Theriogenology 53: 951-962) que la continua infusión de OT durante la segunda mitad de la fase lútea del ciclo estral provoca un retraso en la luteólisis y un menor desarrollo folicular. Bajo condiciones de estudio *in vitro* se reporta que la P₄ inhibe el efecto estimulador de la OT sobre la secreción endometrial de PGF_{2 α} (Bogacki M, Silva WJ, Rekawiecki R, Kotwica J 2002. Biol. Reprod. 67: 184-188) en la fase luteal temprana y tardía (días 14 al 18), cuando existe la probabilidad de un embrión viable (Spencer TE, Bazer FW 2004. Reprod Biol Endocrinol 2: 1-15). Pero su efecto inhibitorio transitorio puede perderse y entonces vía estimulación estrogénica dar lugar a la formación de OT y sus receptores (OTR) en el útero, mismos que juegan un papel importante en el control de los patrones episódicos de PGF_{2 α} responsable de la luteólisis en rumiantes (McCracken JA, Custer EE, Lamsa JC 1999. Physiol Rev 79: 263-323; Robinson RW, Mann GE, Lamming GE, Wathes DC 2001. Reproduction 122: 965-979). Otros autores repor-

tan que la administración de OT en dosis de 230 UI han producido niveles elevados y suficientes de PGF_{2α} capaz de disminuir las concentraciones de P₄, provocar la luteólisis y acortar el ciclo estral en vacas y vaquillas (Oyedipe EO, Gustafsson B, Kindhal H 1984. *Theriogenology* 22: 329-339; Gilbert CL, Lamming GE, Parkinson T, Flint APF, Wathes DC 1989. *J Reprod Fert* 86: 203-210). Sin embargo, es importante conocer lo que sucede cuando se aplica dosis bajas de OT sobre la dinámica ovárica en las diferentes etapas del ciclo estral, tal como es usada en los sistemas de doble propósito.

El objetivo de éste estudio fue evaluar los efectos de la aplicación de 20 UI/d de OT sobre la dinámica folicular, el desarrollo del CL y las concentraciones séricas de P₄ en vaquillas de doble propósito. La información derivada de esta investigación contribuye al conocimiento de la dinámica folicular y ciclo estral de bovinos en ambiente tropical en los que se aplica OT.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La fase experimental se realizó en el rancho ganadero de cría de bovinos de doble propósito "El Progreso" ubicado a 35 km de la carretera Huimanguillo - Mezcalapa en el Ejido Tomás Garrido Canabal, municipio de Huimanguillo y comprende la subregión Chontalpa del estado de Tabasco, con coordenadas geográficas entre los paralelos 17° 19' de latitud norte y 93° 23' de longitud oeste. El clima es tropical húmedo con lluvias todo el año, precipitación pluvial anual promedio de 2 200 mm y una temperatura media anual de 26.2°C (INEGI 1998. Anuario estadístico del estado de Tabasco. Páginas sin número).

Animales y Manejo

Se utilizaron vaquillas (n=10) comerciales Suizo Pardo x Cebú (≥50 % genes *Bos taurus*) entre 2 y 3 años de edad con peso vivo de 464 ± 30 kg. Las vaquillas pastorearon en praderas de pasto estrella de África (*Cynodon plestostachyus*) mezclado con gramíneas del género *Brachiaria* y suplementadas con sales minerales *ad libitum*. Las vaquillas se sincronizaron con dos inyecciones de PGF_{2α} (Lutalyse® Pharmacia Up Jhon) con un in-

tervalo de 11 d, detectándose estros 24 h después, tres veces al día (05:00, 13:00 y 19:00 h) por espacio de una hora.

Aplicación de Tratamientos y Muestreo

Las vaquillas fueron identificadas y asignadas en pares aleatorios a uno de dos tratamientos: agua salina (AS, n=5), 1 mL i.m en dos aplicaciones (am y pm), y 20 UI/d de OT i.m. (n=5; USP, Triparox de laboratorios Trianon de México) en dos aplicaciones (10 UI am y 10 UI pm). El volumen de solución inyectada fue similar entre grupos.

El desarrollo folicular fue monitoreado una vez al día a partir de la última aplicación de PGF_{2α} hasta la presentación del segundo estro. Los ovarios fueron escaneados en diferentes planos mediante ultrasonografía transrectal de acuerdo a la metodología propuesta por Sirois & Fortune (Sirois J, Fortune JE 1988. *Biol Reprod* 39: 308-317). De la misma forma se dio seguimiento al desarrollo del CL a través del ciclo estral. El equipo utilizado fue un Aloka 500V en tiempo real, modo-B, y transductor con arreglo lineal de 5 MHz (Animal Ultrasound Services, Inc.). Las imágenes de los folículos ováricos en las diferentes etapas del ciclo estral fueron analizadas e interpretadas mediante el software AUSKey® para Windows (Animal Ultrasound Services, Inc.). A partir del cuarto día del ciclo estral se les dio seguimiento a los folículos con diámetro ≥5 mm, identificando el número de ondas foliculares en cada vaquilla así como el folículo dominante, día y tamaño máximo del folículo. Se tomaron muestras diarias de sangre (10 mL) por punción de la vena coccígea para comparar las concentraciones séricas de P₄ entre tratamientos. Los sueros extraídos fueron congelados a -20° C y analizados en el laboratorio de radioinmunoensayo (RIA) de la Universidad Estatal de Nuevo México, en Las Cruces, N.M, USA. El kit usado para P₄ fue de Diagnostic Products Corp. (DPC) Los Angeles, CA., validado por Schneider & Hallford (Schneider FA, Hallford M 1996. *Sheep & Goat Res J* 12: 33-38) en el mismo laboratorio; el C.V. intra y entre ensayos fue de 2.97 % y 0.4 %, respectivamente.

Variables Medidas y Análisis Estadístico

La información generada se analizó con un ANOVA bajo un diseño completamente al azar con PROC MIXED del programa estadístico SAS (SAS

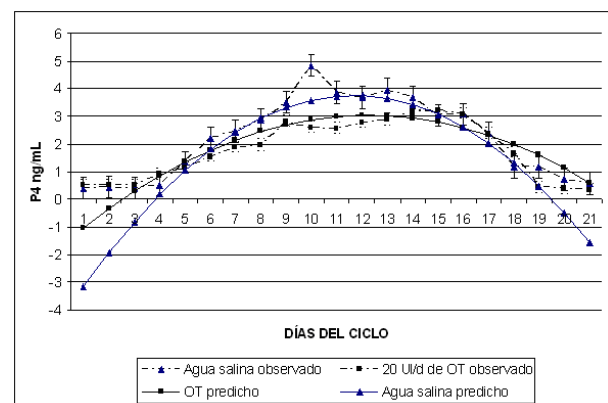
2001. User's Guide. Páginas sin número). Las variables incluidas en el modelo fueron: duración del ciclo estral, tamaño máximo del folículo dominante en cada onda folicular, desarrollo del CL y tamaño máximo alcanzado, día en que el folículo dominante alcanzó su mayor tamaño en cada onda folicular y número de folículos ≥ 5 mm en cada onda folicular. Se incluyó como efecto fijo el tratamiento y como efecto aleatorio vaquilla dentro de tratamiento. Los niveles de P_4 y desarrollo del CL se analizaron de acuerdo a la fase luteal (temprana, días 4-8; intermedia, días 9-13; y tardía, días 14-18; Tanaka J, Acosta TJ, Berisha B, Tetsuka M, Matsui M, Kobayashi S, Schams D, Miyamoto A 2004. J Reprod Dev 50: 619-626), bajo un diseño estadístico completamente al azar mediante un ANOVA por PROC MIXED del programa estadístico SAS (SAS 2001. User's Guide. Páginas sin número), incluyendo como efectos fijos el tratamiento, fase luteal y la interacción tratamiento por fase luteal, y como efectos aleatorios vaquilla dentro de tratamiento y pareo de vaquilla. Se plantearon contrastes ortogonales para la interacción tratamiento por fase luteal, y comparar las medias de los niveles de P_4 por fase, y análisis de bondad de ajuste para determinar la tendencia en la curva de P_4 .

RESULTADOS Y DISCUSION

No se detectaron diferencias ($p > 0.05$) en la duración del ciclo estral entre las vaquillas tratadas con AS (21.2 ± 0.5 d) y OT (20.0 ± 0.5 d). El crecimiento folicular en las vaquillas de ambos tratamientos fue caracterizado por la presencia de dos ondas foliculares. Tampoco se encontraron diferencias ($p > 0.05$) debidas al tratamiento en el tamaño máximo alcanzado por el folículo dominante en la primera y segunda onda folicular (folículo ovulatorio; Tabla 1). Sin embargo, se encontraron diferencias ($p < 0.05$) en el número de folículos ≥ 5 mm en la primera onda folicular de vaquillas tratadas con AS (4.60 ± 0.4 folículos) y OT (3.40 ± 0.4 folículos), y en la segunda onda folicular de vaquillas tratadas con AS (4.40 ± 0.4 folículos) y OT (3.60 ± 0.5 folículos).

No hubo diferencias ($p > 0.05$) en el diámetro de desarrollo del CL en la etapa temprana (15.75 ± 2.0 mm vs 16.48 ± 1.0 mm), intermedia (15.82

± 2.0 mm vs 16.31 ± 1.0 mm) y tardía (15.34 ± 2.0 mm vs 14.77 ± 1.0 mm) entre vaquillas tratadas con AS y OT, respectivamente. Sin embargo, las concentraciones de P_4 en las vaquillas con OT mostraron tendencia a ser menores en los días de la fase lútea intermedia (2.86 ± 0.2 ng/mL vs 3.81 ± 0.4 ng/mL; $p < 0.08$), pero no así en la fase luteal temprana (1.61 ± 0.2 ng/mL vs 1.80 ± 0.2 ng/mL; $p = 0.73$) y tardía (2.51 ± 0.2 ng/mL vs 2.73 ± 0.4 ng/mL; $p = 0.79$). Es conocido que la P_4 es producida en forma de pulsos, por lo que las estimaciones para OT y AS mostraron una tendencia cuadrática ($p < 0.01$), lo cual nos permite corroborar diferencias en las concentraciones de P_4 entre OT y AS en la fase luteal intermedia (Figura 1).



Tendencia cuadrática ($p < 0.01$); estimadores para predecir niveles de P_4 para: OT, $\hat{y} = -1.78 + 0.78$ (día) - 0.03 (día²); AS, $\hat{y} = -4.52 + 1.42$ (día) - 0.06 (día²).

Figura 1. Concentraciones séricas de P_4 observadas y predichas en vaquillas tropicales de doble propósito con la aplicación de OT o agua salina.

Figure 1. Observed and predicted P_4 serum concentrations in tropical dual purpose heifers with OT or saline water application.

En el trópico, los sistemas de producción de bovinos de doble propósito bajo ordeña mecanizada, esta sustituyendo el uso de la cría para inducir la eyección de la leche por la práctica de aplicar OT a razón de 10 UI/d i.m. o s.c. en cada ordeña durante la lactancia completa. Pero éste manejo se está haciendo sin conocer si el uso de OT puede resultar en detrimento del éxito reproductivo o eventos intraováricos que se llevan a cabo en las diferentes etapas del ciclo estral. A diferencia de otros estudios donde la dosificación de la OT fue en base al peso corporal de los animales bajo otros métodos y vías de aplicación, en este estudio se hizo de la manera tal como la OT es usada en establos lecheros, bus-

Tabla 1. Duración del ciclo estral, dinámica folicular y tamaño del CL en vaquillas de doble propósito tropical tratadas con OT.
Table 1. Estrous cycle length, follicular dynamics and size of the CL in tropical dual purpose heifers treated with OT.

	DCEST (d) ¹	TMFO1 (mm) ²	TMFO2 (mm) ³	DTFO1 ⁴	DTFO2 ⁵	NFO1 ⁶	NFO2 ⁷
1 mL AS*	21.20±0.72 ^a	10.78±1.25 ^a	14.37±0.89 ^a	9.20±0.70 ^a	20.00±0.52 ^a	4.60±0.45 ^a	4.40±0.45 ^a
20 UI OT/d	20.00±0.72 ^a	12.91±1.25 ^a	14.52±0.89 ^a	8.80±0.70 ^a	19.60±0.52 ^a	3.40±0.45 ^b	3.60±0.55 ^b

¹DCEST=duración del ciclo estral; ²TMFO1=tamaño máximo del folículo de la onda 1; ³TMFO2=tamaño máximo del folículo en la onda 2; ⁴DTFO1=día del tamaño máximo del folículo en la onda 1; ⁵DTFO2=día del tamaño máximo del folículo en la onda 2; ⁶NFO1=número de folículos ≥ 5 mm en la onda folicular 1; ⁷NFO2=número de folículos ≥ 5 mm en la onda folicular 2.

^a ^b Medias con literales distintas en la misma columna son diferentes (P<0.05).

*AS=agua salina.

cando que los resultados se apeguen a la realidad.

Los resultados de no diferencia en duración del ciclo estral, difieren a los de Lutz *et al.* (Lutz SL, Smith MF, Keisler DH, Garverick HA 1991. Dom Anim Endocrinol 8: 573-585) que administraron OT por infusión osmótica o por infusión vía cánula en la yugular a partir del día 10 del ciclo y observaron retraso en la luteólisis en aquellas vaquillas con OT, y la luteólisis ocurrió hasta después de que cesó la administración de los tratamientos. En otro experimento, cuando Lutz *et al.* (Lutz SL, Smith MF, Keisler DH, Garverick HA 1991. Dom Anim Endocrinol 8: 573-585) administraron 100 UI de OT i.v. en el día 16 del ciclo en vaquillas en las que administró solución salina por infusión observaron que la OT indujo secreción de PGF_{2α}. En la misma dirección, Tallam *et al.* (Tallam SK, Walton JS, Johnson WH 2000a. Theriogenology 53: 951-962; Tallam SK, Walton JS, Johnson WH 2000b. Theriogenology 53: 963-979) en vaquillas pero con dosis de 1.9 mg/d de OT, por infusión, i.v. y durante la fase luteal tardía (día 14 al 26 del ciclo), observaron ciclos estrales prolongados, y regresión lútea prematura cuando inyectaron OT en la etapa luteal temprana. La diferencia de resultados con el presente estudio probablemente se deba a la dosis y tiempo de aplicación.

Por otro lado, los resultados de no diferencia en el desarrollo del CL, y las concentraciones de P₄ en la fase lutea tardía, están en acuerdo con Kotwica *et al.* (Kotwica J, Schams D, Meyer HH, Mittermeier T 1988. J Reprod Fertil 83: 287-94) y con uno de los experimentos de Tallam *et al.* (Tallam SK, Walton JS, Johnson WH 2000b. Theriogenology 53:963-979) en el que reportan no haber encontrado efectos significativos en el desarrollo del CL, así como tampoco en las concentraciones de P₄ en los tratamientos cuando administraron OT

por infusión intravenosa durante la fase luteal intermedia, pero no con los presentados por Howard *et al.* (Howard HJ, Morbeck DE, Brito JH 1990. J Reprod Fertil 90: 493-502). Sin embargo, en otro experimento (Tallam SK, Walton JS, Johnson WH 2000b. Theriogenology 53: 963-979) cuando inyectaron 0.33 USP unidades/kg de peso corporal de OT durante la fase luteal temprana, observaron una regresión prematura, un CL con un menor tamaño y menores concentraciones de P₄ en plasma, en comparación con aquellas vaquillas que recibieron OT por infusión i.v. o solución salina. Comparado con el estudio referido, la dosis de OT usada en el presente estudio fueron 15 veces menores.

A pesar del número de repeticiones por tratamiento, las diferencias en las concentraciones de P₄ observadas en la fase luteal intermedia muestran evidencias de que es posible que la OT administrada durante fases intermedia del ciclo estral pueda ser complementaria a la PGF_{2α} y a la OT del componente autocrino/paracrino que regula la liberación de P₄ del CL bovino (Bah MM, Acosa TJ, Pilawski W, Deptula K, Okuda K, Skarzynski DJ. 2006. Prostaglandin & Other Lipid Mediat 79: 218-229), lo que no reflejó una luteólisis estructural, si una funcional. De esta manera se puede pensar que la diferencia en concentraciones de P₄ teóricamente no son suficientes para alterar el ambiente uterino y el subsiguiente éxito de una viabilidad embrionaria, ya que de acuerdo a Nostrand *et al.* (Nostrand SD, Galton DM, Erb HN, Bauman DE 1991. J Dairy Sci 74: 2119-2127), la aplicación de dosis de OT similares a las empleadas en su estudio durante la lactancia completa, no tuvieron efectos adversos aparentes sobre el comportamiento reproductivo. Sin embargo, esta incógnita en bovinos de doble propósito quedaría resuelta hasta comprobar lo contrario, ya que con-

concentraciones adecuadas de P_4 son muy importantes para la viabilidad embrionaria (Mann GE, Lamming GE 2001. *Reproduction* 121: 175-180; Santos JEP, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA, Galvão KN 2004. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83: 513-535) y fallas en funcionalidad del CL y producción de P_4 ha sido asociada con problemas de fertilidad (Roberson MS, Wolfe MW, Stumpf TT, Kittok RJ, Zinder JE 1989. *Biol Reprod* 41: 997-1003), toda vez que se ha observado mayor éxito reproductivo en vacas con concentraciones de P_4 altas previo al servicio (Erb RE, Garverick HA, Randel RD, Broyi BL, Callahan CJ 1976. *Theriogenology* 5: 227-242).

No hay una razón clara que explique las diferencias entre tratamientos en cuanto al número de folículos >5 mm tanto en la primera como en la segunda onda folicular. Pero las evidencias muestran que las olas de LH/FSH estimulan la expresión de genes ováricos, síntesis y secreción de OT que puede mediar cambios en la producción de P_4 , así como la luteinización de células de la granulosa (Voss AK, Fortune JE 1992. *Endocrinology* 131: 2755-2762). Estos cambios en los niveles de P_4 están relacionados a factores tales como tamaño de folículos, concentración de E_2 y con el número de folículos y la selección del folículo dominante (Sunderland SJ, crowe MA, Boland MB Roche JF, Ireland JJ 1994. *J Reprod Fertil* 101: 547-555), además de que la OT eventualmente juega un papel determinante en la secreción de patrones de LH (Evans JJ, Hurd SJ, Mason DR 1995. *J Endocrinol* 145: 113-119; Evans JJ 1996. *J Endocrinol* 151: 169-174). También se ha reportado en ovejas que la administración de P_4 puede incrementar el fluido intrafolicular (Johnson SK, Dailey RA, Inskeep EK, Lewis PE 1996. *Domest Anim Endocrinol* 13: 60-79) e indirectamente los niveles de E_2 , que actúan sobre el reclutamiento folicular.

El análisis de imágenes ováricas por ultrasonido se ha usado en forma efectiva en el seguimiento de la dinámica folicular durante diferentes estados reproductivos en vaquillas y en la medición de estructuras bajo un sistema validado (Rajamahendran R, Taylor C 1991. *J Reprod Fertil* 92: 461-467). El seguimiento del desarrollo folicular reveló patrones de dos ondas foliculares, una anovulatoria, la cual apareció entre los días 2 y 3 del ciclo estral, y otra ovulatoria la cual apareció entre los días 8 al 10 del

ciclo estral en ambos grupos, con un intervalo de duración promedio entre ondas de 8 d. Estas ondas se caracterizaron por el desarrollo de un folículo dominante así como un número variable de folículos acompañantes, resultados que se asemejan a los reportados por Sirois & Fortune (Sirois J, Fortune JE 1988. *Biol Reprod* 39: 308-317) y Ginther *et al.* (Ginther OJ, Kastelic JP, Knopf L 1989. *Anim Reprod Sci* 20: 187-200), quienes encontraron vaquillas con patrones de dos ondas foliculares durante el ciclo estral caracterizadas por la presencia de un folículo dominante acompañado con un número variable de folículos subordinados.

Los resultados presentados revelan que la dosis de OT aplicada no produjo diferencias entre tratamientos en cuanto al día, desarrollo y tamaño del folículo dominante de la primera onda folicular y del folículo preovulatorio de la segunda onda folicular, resultados que están en acuerdo con los reportados por Tallam *et al.* (Tallam SK, Walton JS, Johnson WH 2000a. *Theriogenology* 53: 951-962; Tallam SK, Walton JS, Johnson WH 2000b. *Theriogenology* 53: 963-979) aún cuando estos investigadores aplicaron cantidades de OT superiores. El tamaño máximo del folículo preovulatorio reportado en el presente estudio corresponde al reportado por Ginther *et al.* (Ginther OJ, Kastelic JP, Knopf L 1989. *Anim Reprod Sci* 20: 187-200) en vaquillas Holstein y por Calderón *et al.* (Calderón-Robles RC, Villa-Godoy A, Lagunes-Lagunes J, Fejersson P 2000. *Tec Pecu Mex* 38: 163-175) en vaquillas Suizo Pardo x Cebú de doble propósito bajo pastoreo.

Se concluye que la dosis de 20 U/d de OT afectó el número de folículos de ≥ 5 mm y las concentraciones de P_4 en la fase luteal intermedia (días 9 al 13), sin modificar la dinámica de desarrollo folicular, la duración del ciclo estral, ni el desarrollo y tamaño del CL. Por lo tanto, en el presente estudio no se generaron evidencias que indiquen que la OT aplicada diariamente pueda afectar significativamente el desempeño reproductivo a nivel de dinámica folicular en vaquillas. Sin embargo, se debe considerar en estudios futuros incrementar el tamaño de la muestra empleada, y determinar si las concentraciones de P_4 observadas en la etapa luteal intermedia derivados del uso de OT afectan el reconocimiento materno de la gestación y en el éxito reproductivo.

