

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



Relación entre el tamaño del cuerpo lúteo y el área coloreada Doppler en ganado

Wagyu

**Por:**

**Sergio Hernández García**

**TESIS**

Que presenta como requisito parcial para obtener el título de:

**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Torreón, Coahuila, México

Diciembre 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Relación entre el tamaño del cuerpo lúteo y el área coloreada Doppler en ganado

Wagyu

Por:

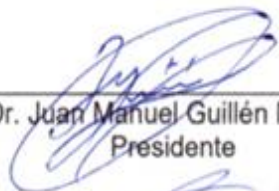
**Sergio Hernández García**


TESIS

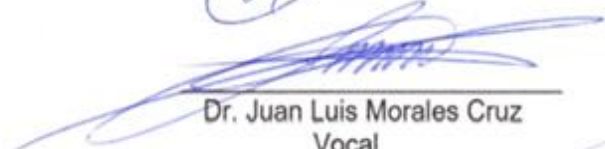
Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:


**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**


Aprobada por:

  
Dr. Juan Manuel Guillén Muñoz  
Presidente

  
Dra. Zurisaday Santos Jiménez  
Vocal

  
Dr. Juan Luis Morales Cruz  
Vocal

  
Dr. Hugo Zuriel Guerrero Gallego  
Vocal suplente

  
MC. José Luis Francisco Sandoval Elías  
Coordinador de la División Regional de Ciencias Animal



Torreón, Coahuila, México

Diciembre 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Relación entre el tamaño del cuerpo lúteo y el área coloreada Doppler en ganado

Wagyu

Por:


**Sergio Hernández García**


TESIS

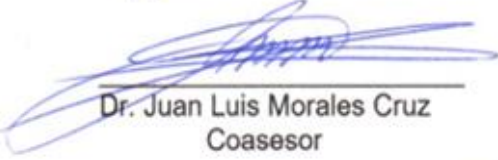
Presentada como requisito parcial para obtener el título del:


**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**


Aprobada por el Comité de Asesoría:

  
Dr. Juan Manuel Guillén Muñoz  
Asesor Principal Interno

  
Dra. Zuriaday Santos Jiménez  
Asesor Principal Externo

  
Dr. Juan Luis Morales Cruz  
Coasesor

  
Dr. Hugo Zuriel Guerrero Gallego  
Coasesor

  
MC. José Luis Francisco Sandoval Elías

Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México

Diciembre 2023

## AGRADECIMIENTOS

*A Dios por la vida, por permitirme hacer realidad este sueño anhelado.*

*En especial al Dr. Juan Luis Morales Cruz, por su gran profesionalismo que con mucha dedicación ha compartido sus conocimientos durante mi periodo educativo, por creer en mí y depositarme su confianza desde el principio, por aceptarme y poder formar parte de su equipo de trabajo en el centro de biotecnología de la reproducción (CBR). Porque todo lo que hoy profesionalmente he podido aprender se lo debo a él, por su guía, su apoyo moral y profesional.*

*A mis asesores de tesis, al Dr. Juan Manuel Guillen Muñoz y a la Dra. Zurisaday Santos Jiménez por su valioso apoyo en este trabajo de investigación, sugerencias, esfuerzo, dedicación y sobre todo por sus experiencias compartidas.*

*A mi coasesor de tesis, Dr. Hugo Zuriel Guerrero Gallego por motivarme en todo momento, por compartir sus conocimientos y experiencias.*

*Al C. Luis Crescencio Sandoval González, Secretario General de la Defensa Nacional, por aceptarnos y permitirnos realizar nuestra estancia profesional en las instalaciones del criadero militar de Santa Gertrudis Chihuahua.*

*Al C. Gral. Brig. D.E.M. Eduardo Villegas Velázquez comandante del C.M.G. por recibirnos en sus instalaciones y brindarnos la confianza para poder realizar los trabajos correspondientes.*

*Al Tte. Med. Vet. Jacinto Moreno Armendáriz, Jefe de la Sección Técnica Agropecuaria del C.M.G. por considerarnos en su programa anual de producción de Bovinos.*

*Al Myr. Med. Vet. Miguel Ángel Ramírez Vázquez, Jefe del programa de Producción Bovina, por su confianza brindada y por permitirnos el acceso siempre al laboratorio de reproducción bovina, por la disposición del personal, material de trabajo y disposición de los animales a experimentar en tiempo y forma para que fuesen llevado a cabo las diferentes actividades.*

*Al Sbtte. Med. Vet. Hugo Enrique Ramírez Dorado, encargado del área de reproducción, dentro del programa de Producción Bovina, por brindarnos la confianza en todo momento y permitirnos hacer uso de los equipos de laboratorio, por asesorarnos y estar al pendiente de nosotros.*

*Mi agradecimiento a mi ALMA MATER, de la cual me siento profundamente orgulloso por haberme permitido formarme en sus aulas.*

*A mis amigos médicos veterinarios por los buenos y tantos momentos compartidos en laboratorio y campo, Juan Roberto Esteban, Eduardo Almodóvar, Lucio Gómez, Maurilio Solorio y a Daniel Moscosa por su valiosa participación en este trabajo.*

## DEDICATORIAS

*La presente tesis se la dedico con muchísimo cariño y amor a mi padre, Eliseo Sergio Hernández Pérez y a mi madre, María Carmelina García López, por creer en mí, por su amor incondicional, paciencia y sacrificio para que yo pueda tener éxito en la vida, por su gran valentía para enfrentar y superar juntos los obstáculos que la vida les ha presentado y que a pesar de las circunstancias hicieron de mí un hombre de bien.*

*A mis queridos hermanos, Olga, Juan Carlos, Lourdes y Antonio, por su cariño, motivación y apoyo incondicional que me brindaron en todo momento.*

*A mis sobrinos hermosos por llenar de alegría a la familia.*

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS .....	v
RESUMEN .....	vi
ABSTRACT .....	vii
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2 HIPÓTESIS .....	3
3 OBJETIVO GENERAL .....	3
3.1. Objetivos específicos .....	3
4. REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
4.1. Situación actual de la producción bovina en el mundo .....	4
4.2. Producción bovina en México .....	4
4.3. Historia del ganado Wagyu .....	5
4.4. Raza Wagyu en México .....	5
4.5. Anatomía del aparato reproductor de la hembra bovina .....	6
4.5.1. Vulva .....	6
4.5.2. Vagina .....	6
4.5.3. Cérvix .....	7
4.5.4. Útero .....	7
4.5.5. Oviducto .....	7
4.5.6. Ovarios .....	8
4.6. Pubertad .....	9
4.7. Endocrinología del ciclo estral .....	10
4.8. Dinámica folicular .....	11
4.8.1. Reclutamiento .....	12
4.8.2. Selección .....	12
4.8.3. Dominancia .....	13
4.9. Ciclo estral .....	13
4.10. Etapas del ciclo estral .....	14
4.10.1. Estro .....	14
4.10.2. Metaestro .....	14

4.10.3. Diestro .....	14
4.10.4 Proestro .....	14
4.11. Formación del cuerpo lúteo .....	15
4.12. Ultrasonografía.....	16
4.13. Escala de grises.....	17
4.14. Modos de ultrasonido .....	18
4.14.1. Modo A (Amplitud).....	18
4.14.2. Modo B (Brillo) .....	18
4.14.3. Modo M (Movimiento).....	18
4.15.4. Doppler.....	19
4.16. Modos Doppler.....	19
4.16.1. Doppler continuo .....	19
4.16.2. Doppler pulsado .....	19
4.16.3. Doppler Espectral .....	20
4.16.4. Doppler Color .....	20
4.16.5. Doppler Poder o Power Angio.....	20
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
5.1. Localización del área de estudio .....	23
5.2. Descripción de los animales experimentales .....	23
5.3. Evaluación ecográfica.....	23
5.4. Análisis de imagen y cuantificación de píxeles.....	24
6. RESULTADOS .....	25
7. DISCUSIÓN.....	27
8. CONCLUSIÓN .....	30
9. LITERATURA CITADA.....	31

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Anatomía del aparato reproductor de la hembra bovina. A) Ovarios, B) Oviducto, C) Útero, D) Cuello del útero, E) Vagina, F) Vulva. (Lenis et al., 2014). .....	9
<b>Figura 2.</b> Esquema del eje hipotálamos, hipófisis y ovario (Lenis et al., 2014).....	11
<b>Figura 3.</b> Etapas del ciclo estral (Hernández, 2016).....	15
<b>Figura 4.</b> Escala de ecogenicidad (Villaseñor et al., 2012). .....	18
<b>Figura 5.</b> Correlación Spearman entre el tamaño del cuerpo lúteo (mm) con el Área coloreada (mm) en la hembra #453. ....	25
<b>Figura 6.</b> Correlación Spearman entre el tamaño del cuerpo lúteo (mm) con el Área coloreada (mm) en la hembra #1443. ....	26
<b>Figura 7.</b> Correlación Spearman entre el tamaño del cuerpo lúteo (mm) con el Área coloreada (mm), en la hembra #4788.....	26



## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la correlación del flujo sanguíneo que existe con el crecimiento del área luteal después de la ovulación en el ganado Wagyu, usando equipo de ultrasonido Doppler, este método detecta la cantidad de glóbulos rojos que se mueven a través de los vasos sanguíneos y los muestra como píxeles de color en la imagen en modo B del cuerpo lúteo. Se utilizaron tres vacas de la misma raza de tres años con un peso promedio de  $390 \pm 8.2$  kg. Las evaluaciones obtenidas de imágenes ultrasónicas se utilizaron para determinar el área colorida por el efecto color Doppler. Los datos fueron analizados previamente con una prueba de “Shapiro test” para determinar la normalidad. Para evaluar la correlación entre tamaño del cuerpo lúteo y área colorada Doppler se realizó una prueba de “correlación Spearman”. Se consideró una diferencia estadística a  $p < 0.05$ . Todos los procedimientos fueron realizados con el programa R Studio versión 4.0.5. En todos los animales existió una correlación positiva moderada con rangos de Spearman’s Rho entre 0.43 a 0.61. En todas las hembras fue significativa esta correlación donde en 2/3 fue altamente significativa ( $p < 0.01$ ) y en 1/3 fue  $p < 0.05$ . El uso de la ecografía Doppler es una técnica no invasiva que se ajusta a las nuevas tendencias mundiales de bienestar animal que nos proporciona una referencia importante respecto a la vascularización del cuerpo lúteo lo cual está directamente relacionado con los niveles de progesterona y nos ayuda a entender mejor los cambios hemodinámicos que suceden el cuerpo lúteo durante el ciclo estral de las vacas Wagyu.

**Palabras clave:** Ciclo estral, Cuerpo lúteo, Doppler, Wagyu, Cuantificación de píxeles

## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the correlation of blood flow that exists with the growth of the luteal area after ovulation in Wagyu cattle, using Doppler ultrasound equipment, this method detects the amount of red blood cells that move through the blood vessels and displays them as colored pixels on the B-mode image of the corpus luteum. Three three-year-old cows of the same breed with an average weight of  $390 \pm 8.2$  kg were used. Evaluations obtained from ultrasound images were used to determine the colored area by the color Doppler effect. The data were previously analyzed with a "Shapiro test" to determine normality. To evaluate the correlation between size of the corpus luteum and Doppler colored area, a "Spearman correlation" test was performed. A statistical difference was considered at  $p < 0.05$ . All procedures were carried out with the R Studio program version 4.0.5. In all animals there was a moderate positive correlation with Spearman's Rho ranges between 0.43 to 0.61. In all females this correlation was significant, where in 2/3 it was highly significant ( $p < 0.01$ ) and in 1/3 it was  $p < 0.05$ . The use of Doppler ultrasound is a non-invasive technique that adjusts to new global trends in animal welfare that provides us with an important reference regarding the vascularization of the corpus luteum, which is directly related to progesterone levels and helps us understand better the hemodynamic changes that occur in the corpus luteum during the estrous cycle of Wayuu cows.

**Keywords:** Estrous cycle, Corpus luteum, Doppler, Wagyu, Pixel quantification

## 1. INTRODUCCIÓN

Los avances en la tecnología de ultrasonido han hecho contribuciones significativas a la investigación reproductiva bovina y a la medicina veterinaria. La ecografía convencional en modo B se utilizó por primera vez en la investigación reproductiva bovina a principios de la década de 1980, lo que permitió a los investigadores realizar evaluaciones in vivo del tracto reproductivo mediante la producción de imágenes bidimensionales en escala de grises. Esta tecnología ayudó a aumentar el conocimiento de la biología reproductiva del ganado y por ende facilitó el desarrollo de determinadas biotecnologías reproductivas (Fontes y Oosthuizen, 2022). Pero en las últimas décadas, se ha desarrollado la ecografía Doppler color (Sharawy *et al.*, 2022) siendo un método relativamente nuevo que se utiliza para evaluar los órganos reproductivos y permite determinar el flujo y la perfusión sanguínea mediante el efecto Doppler, proporcionando información clínicamente relevante sobre la vascularización de órganos o estructuras específicas dentro de esos órganos, evaluando su funcionalidad (Dubuc *et al.*, 2020). Esta tecnología cuantifica el flujo sanguíneo folicular o luteal y mediante un software de análisis de imágenes por computadora se mide el área de color en relación con el área total de estas estructuras (Díaz *et al.*, 2019). Siendo esta una tecnología no invasiva ni traumática (Sharawy *et al.*, 2022)

Estudios anteriores han utilizado métodos invasivos para evaluar el flujo sanguíneo en el sistema reproductivo de vacas lecheras para detectar cambios rítmicos asociados con cambios en las concentraciones séricas de progesterona (P4) y estradiol (E2) durante el ciclo estral (Sharawy *et al.*, 2022)

Entre los muchos usos de esta tecnología en la cría de ganado, se ha explorado como una herramienta para determinar el flujo sanguíneo uterino durante la gestación, evaluación de la perfusión sanguínea folicular y luteal, se ha utilizado también para identificar y seleccionar receptoras que tienen una mayor tasa de éxito de gestación después de la transferencia de embriones y como herramienta para el diagnóstico temprano de gestación (Dubuc *et al.*, 2020). El uso del ultrasonido Doppler se ha duplicado en comparación con la década anterior, mejorando en gran

medida el diagnóstico clínico y la eficiencia reproductiva en rebaños lecheros y de carne (Pugliesi *et al.*, 2018).

En los ovarios, los folículos y el cuerpo lúteo reciben suministro de sangre a través de una compleja red de vasos sanguíneos y durante el ciclo reproductivo se producen cambios importantes en el tamaño y la morfología de los vasos ováricos, estos cambios funcionales y estructurales ocurren principalmente en la microvasculatura del complejo lúteo-folicular, que tiene funciones importantes en la foliculogénesis, la producción de hormonas ováricas y la ovulación. Después de la liberación de la hormona luteinizante (LH) desde la hipófisis anterior y antes de la ovulación, aumenta la vasodilatación, aumenta la permeabilidad vascular, se produce congestión y aumenta el flujo sanguíneo ovárico (Díaz *et al.*, 2019).

Tanto el crecimiento folicular como la atresia folicular están regulados por la extensión y el tipo de desarrollo vascular, pero una alteración en este proceso puede resultar en una alteración también del estado fisiológico o en la aparición de condiciones patológicas (Díaz *et al.*, 2019).

## **2 HIPÓTESIS**

Pudiera existir una correlación entre el tamaño luteal y el área coloreada con el efecto Doppler la raza Wagyu.

## **3 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la relación del tamaño y la vascularización del cuerpo lúteo con la imagen ecográfica Doppler en la raza Wagyu.

### **3.1. Objetivos específicos**

- Medir el tamaño del cuerpo lúteo.
- Cuantificar los pixeles coloridos como indicador de una vascularización.
- Determinar la proporción del área coloreada con respecto al área del tejido luteal.

## 4. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1. Situación actual de la producción bovina en el mundo

Se estima que la población mundial llegará a casi 10,000 millones de personas en el año 2050, dicho crecimiento contribuirá a numerosos desafíos sociales principalmente la seguridad alimentaria, pobreza, escasez de recursos y cambio climático. Por lo tanto, la industria ganadera mundial tiene un papel importante que desempeñar como motor de la producción sostenible de alimentos, al tiempo que priorizará la nutrición, seguridad, calidad, productividad y la eficiencia para satisfacer las necesidades y los desafíos de una población mundial en crecimiento (Moore *et al.*, 2021).

La carne bovina fue la tercera carne más consumida después de las aves y el cerdo en 2019, con una demanda mundial de 70 millones de toneladas en el mismo año y se espera que crezca a 74 millones de toneladas para este año 2023 (Greenwood, 2021). Existe alrededor de 1.500 millones de cabezas de ganado en el mundo (FAOSTAT, 2020) y entre las principales naciones o regiones productoras de carne de res están EE. UU con el 17 % de producción, Europa con el 15 %, Brasil con el 13 %, China con el 13 %, Argentina, India y Australia con el 4 % (Greenwood, 2021).

### 4.2. Producción bovina en México

El 56 % del territorio nacional se destina a la producción ganadera, y los sistemas de cría de ganado bovino varían según las regiones geográficas, desarrollándose en regiones agroclimáticas áridas, semiáridas, templadas, tropicales y subtropicales del país (Greenwood, 2021).

El mayor intercambio comercial de México es con Estados Unidos, en 2020, la industria manufacturera de EE.UU. Experimentó desafíos operativos debido al impacto sanitario por COVID-19, lo que resultó en aumentos significativos en las exportaciones nacionales y disminuciones significativas en las importaciones al mercado (SIAP, 2022).

### **4.3. Historia del ganado Wagyu**

El ganado Wagyu (ganado negro japonés) es el resultado de mejorar el ganado nativo en Japón, criado antes del periodo Meiji (1868 d. c.) incluye cuatro tipos que están registrados como Wagyu japonés, el negro japonés (raza principal), Marrón japonés, Shorthorn japonés y ganado japonés sin cuernos. Sin embargo, más del 95 % del Wagyu es ganado negro japonés (Inagaki *et al.*, 2017), todos han jugado un papel importante en la historia local y en la agricultura, especialmente en la producción y cultivo de arroz, siendo utilizados como animales de tiro y transporte de carga (Gotoh *et al.*, 2014). En los últimos años, el porcentaje de grasa intramuscular de la carne del ganado negro japonés ha sido superior al 30 % (Gotoh *et al.*, 2014) y la mayor concentración de marmoleo está asociada con la presencia de un mayor porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA), en comparación con otras razas bovinas, no obstante, esto puede afectar otros aspectos de la fisiología animal, incluida la secreción hormonal y su éxito reproductivo asistido (Facioli *et al.*, 2020).

El color del pelaje del ganado Wagyu es negro o rojo y son de temperamento pacífico, se adaptan fácilmente a una amplia gama de condiciones climáticas, son altamente fértiles y la mayor parte del ciclo de la hembra comienza antes de los 12 meses de edad, tiene una conversión de carne superior con la capacidad de marmolearse tanto en alimentación con granos como con forrajes, cuando se cruza con otras razas se mejora el grado de calidad y agrega más consistencia a la calidad del canal (Paul, 2013).

### **4.4. Raza Wagyu en México**

La primera exportación de ganado Wagyu llegó a EEUU en 1976, 17 años después se dio la segunda exportación de dos toros y tres vacas, posterior a eso se dan 8 exportaciones más (BMeditores, 2019). Finalmente, en 2001, Japón declara a la raza Wagyu como patrimonio nacional y optan por ya no comercializarla a otros países (Anrique, 2004).

Actualmente se produce Wagyu en varios países como EEUU, Australia, Chile, Argentina, Brasil, Canadá, Costa Rica, China y México (BMeditores, 2019).

Hoy en día, la renombrada raza Wagyu incluye no solo ganado producido en Japón, sino también ganado que se produce en otros países (Gotoh *et al.*, 2014). El desempeño reproductivo del ganado Wagyu está recibiendo una mayor atención por parte de los productores de ganado de carne, ya que la mejora genética puede generar mayores utilidades (Hirooka y Oishi, 2018).

Esta raza se caracteriza por su sobresaliente fertilidad y aptitud materna, gran precocidad sexual y productiva, alta capacidad de crecimiento, ideal para cruzar a cualquier otra raza para mejorar la calidad de carne y reducir los problemas de partos distócicos, se adapta a diferentes ambientes climáticos, es de temperamento dócil lo cual es de fácil manejo (BMeditores, 2019). Aunque la raza es costosa de producir, ya en el mercado valen aproximadamente cuatro veces más que un ternero Holstein Friesian (Sasaki *et al.*, 2016).

#### **4.5. Anatomía del aparato reproductor de la hembra bovina**

##### **4.5.1. Vulva**

Es la apertura externa del aparato genital de la hembra, formada por los labios vulvares (Galina y Valencia, 2008) que al unirse forman las comisuras dorsal y ventral, con un ángulo más definido de la comisura ventral, ya que en esta alberga la fosa del clítoris. La vulva también cumple funciones como el paso de la orina hacia el exterior, entrada del pene durante la monta, y salida del feto durante el parto. (Lenis *et al.*, 2014; Figura 1).

##### **4.5.2. Vagina**

Se continúa caudal al cuello del útero, denominado vestíbulo vaginal, delimitado por el orificio uretral externo (ubicado en posición ventral), en posición caudal al orificio uretral externo se observan dos depresiones laterales que corresponden a la desembocadura del conducto de las glándulas vestibulares mayores (glándulas de Bartolini). Siendo un órgano tubular encargado de la recepción del pene y de propiciar el paso de los espermatozoides hacia el canal cervical, por su capacidad de expansión y elasticidad permitirá la salida del feto al momento del parto (Galina y Valencia, 2008)



#### **4.5.3. Cérvix**

El cuello uterino o cérvix, es un órgano muscular cartilaginoso que corresponde a la parte más caudal del útero, con un tamaño de 8 a 10 cm (Ungerfeld, 2020). Tiene una capa muscular circular bien desarrollada que contiene fibras elásticas (Galina y Valencia, 2008). El cuello uterino presenta una consistencia firme por la presencia de tres a cuatro pliegues cartilagosos circulares irregulares (anillos) este último sobresale hacia la vagina para formar un saco ciego llamado fornix vaginal, donde es depositado el semen al momento de la monta natural. La expansión del canal cervical dependerá del estado fisiológico del animal, mostrando su máxima expansión durante el parto, las células epiteliales que recubre el canal cervical, produce una secreción mucosa en el estro, pero en la gestación se vuelve más densa formando un tapón llamado tapón de Warton (Lenis *et al.*, 2014; figura 1).

#### **4.5.4. Útero**

El útero está formado por un cuerpo y dos cuernos divergentes que se desarrollan a partir de los conductos paramesonéfricos, derecho e izquierdo, el cuerpo se forma por la unión de los cuernos dejando una sola cavidad (Galina y Valencia, 2008) Histológicamente el útero está compuesta por tres capas, una externa de tipo serosa (perimetrio), una capa muscular (miometrio) y una capa mucosa (endometrio) (Lenis *et al.*, 2014). El endometrio presenta epitelio columnar simple, parcialmente ciliado, y una lámina propia que contiene glándulas tubulares simples, rodeadas de epitelio columnar, estas glándulas se abren directamente a la cavidad uterina, formando la segunda barrera y sitio de almacenamiento de espermatozoides durante su transporte. El miometrio está compuesto por músculo liso, consta de dos capas, una interna circular y una externa longitudinal, entre ellas se puede identificar una capa vascular (Galina y Valencia, 2008; figura 1).

#### **4.5.5. Oviducto**

Oviducto o trompa uterina, es una pequeña estructura tubular muscular sostenida por el mesosálpinx, cuya abertura cercana al ovario tiene forma de embudo llamada infundíbulo (Galina y Valencia, 2008). Está ubicado en el extremo ovárico del oviducto, se extiende a lo largo del borde libre del mesosálpinx y es

considerablemente amplio e incluye la parte lateral del ovario, después del infundíbulo hay otras dos partes del oviducto, la ampolla y el istmo, el diámetro de la ampolla es mayor que el istmo, el cual termina comunicando el oviducto con los cuernos uterinos. La función del oviducto es transportar el oocito al útero y proporcionar un lugar de encuentro entre gametos (oocito y espermatozoides), para la fertilización y la formación del cigoto (Hafez, 2002; figura 1).

#### **4.5.6. Ovarios**

Son órganos con funciones endocrinas y exocrinas, ubicados en pares suspendidos en la región sublumbar por el ligamento ancho, caudales a los riñones, cerca del borde pélvico (Galina y Valencia, 2008). Son productoras de hormonas endocrinas que están involucradas en el ciclo estral, son responsables de las manifestaciones fisiológicas en las diferentes fases del ciclo, en la mayoría de los casos estos órganos tienen una forma ovalada; pero debido a sus cambios cíclicos, su superficie es irregular y su tamaño varía entre 1 a 10 cm (Lenis *et al.*, 2014; Figura 1).



**Figura 1.** Anatomía del aparato reproductor de la hembra bovina. A) Ovarios, B) Oviducto, C) Útero, D) Cuello del útero, E) Vagina, F) Vulva. (Lenis *et al.*, 2014).

#### 4.6. Pubertad

La pubertad se puede definir como el proceso por el cual los animales se vuelven capaces de reproducirse. Al comienzo de la pubertad, un aumento en la concentración de progesterona plasmática indica la actividad ovárica cíclica superando 1 ng/ml. Pero también regulado por un conjunto complejo de interacciones entre factores genéticos, nutricionales y ambientales que controlan los eventos endocrinos que conducen a la capacidad reproductiva. En las novillas, la pubertad comienza cuando el eje hipotálamo-pituitario se vuelve insensible a la retroalimentación negativa del 17- $\beta$  estradiol, lo que resulta en un aumento de la hormona luteinizante (LH). Ahora se acepta que la pubertad y la primera ovulación no siempre coinciden, ya que en la mayoría de las vaquillas prepúberes puede tener ovulaciones silenciosas y ciclos cortos (Estill, 2021).

#### 4.7. Endocrinología del ciclo estral

El sistema nervioso se encarga de regular la función reproductiva de la vaca, el tálamo e hipotálamo ubicados en el diencéfalo, contienen los núcleos neuronales que se especializan en la producción de neurotransmisores. Estos núcleos regulan la síntesis de las hormonas reproductivas producidas en la hipófisis y viajan de allí a los ovarios para estimularlos e iniciar la producción de hormonas ováricas, completando el eje hipotálamo – hipófisis – gónadas. (Matamoros, 2017; Figura 2).

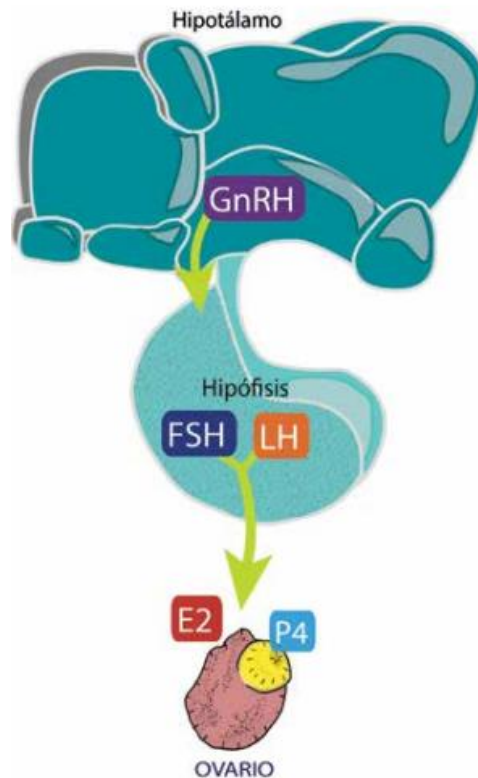
Ya que la hembra bovina haya alcanzado su madures sexual, los cetros neuronales hipotalámicos comienzan con la producción de la denominada hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) que estimula la porción anterior de la hipófisis, específicamente las células gonadotropas encargadas de producir la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), conocidas como hormonas gonadotrópicas. (Rippe, 2009).

La FSH estimula la producción de 17- $\beta$  estradiol (E2) y el crecimiento de folículos ováricos emergentes (Pinel, 2017) con un diámetro promedio de 4 mm aproximadamente, que, después de un proceso fisiológico será seleccionado el folículo que ovulará (Palma, 2008). Por otro lado, la LH tiene un efecto luteinizante sobre el folículo porque, además de promover el crecimiento y la maduración, provoca cambios celulares intrafoliculares (Adams *et al.*, 2008).

Cuando el folículo alcanza un tamaño mayor de 8 mm, la producción de E2 llega a su nivel máximo, el cual viaja por vía sanguínea hacia el hipotálamo induciendo la estimulación del centro de pico de GnRH para la liberación de LH, por lo que esta se libere masivamente al torrente sanguíneo llegando al ovario a desencadenar la producción de progesterona (P4) y la ovulación (Lenis *et al.*, 2014).

Cuando se complete el proceso ovulatorio, a partir de las células que formaban el folículo que contenía al oocito, sufrirá cambios estructurales para dar formación a un cuerpo lúteo, sus células de la granulosa y teca interna por la que está compuesta el folículo se convertirán en células luteales grandes y pequeñas, ambas tendrán la

función de producir P4 en concentraciones suficientes para el mantenimiento de la gestación (Pinel y Pérez, 2017).



**Figura 2.** Esquema del eje hipotálamo, hipófisis y ovario (Lenis *et al.*, 2014).

#### 4.8. Dinámica folicular

En la hembra bovina, el desarrollo folicular ocurre en oleadas que consisten en poblaciones de folículos seleccionados para el crecimiento a partir de un conjunto de folículos en reposo. En cada oleada de folículos seleccionados se establece la competencia por la dominancia, y solo un folículo adquiere la capacidad para desarrollarse y poder seguir creciendo en un ambiente con bajas concentraciones de gonadotropinas, mientras que el resto del grupo sufre atresia (Henao y Trujillo, 2000). Estos eventos están regulados por un complejo conjunto de factores que están interrelacionados permitiendo que se presente la ovulación como punto final del ciclo estral y punto inicial en la vida reproductiva (Delgado *et al.*, 2011). El

desarrollo folicular se puede definir en tres periodos; reclutamiento, selección y dominancia (Senger, 2005).

#### **4.8.1. Reclutamiento**

Se define como el inicio del crecimiento de un grupo de folículos bajo el aporte adecuado de gonadotropinas, principalmente por un aumento en la concentración de FSH. Se caracteriza por el crecimiento simultáneo de 8 a 41 folículos, con un diámetro de hasta 4 mm en los dos ovarios. La FSH se une a sus receptores en la granulosa lo que induce a la transcripción para la producción de la aromatasa P450, promoviendo la conversión a estrógenos de la testosterona que provienen de las células de la teca. El inicio de actividad de la aromatasa en la célula granulosa indica la maduración del folículo en la fase de reclutamiento (Palma, 2008).

#### **4.8.2. Selección**

Esta es la segunda etapa en la que el número de folículos en crecimiento disminuyen debido a la atresia de los folículos subordinados. La atresia se puede definir como la reabsorción de líquido del antro folicular acompañada de apoptosis de los componentes celulares foliculares (ovocitos, células de la granulosa, células de la teca). Esto coincidió con una disminución de las concentraciones de FSH que se produjo 3, 4 días después del reclutamiento (Driancourt, 2001). Esta disminución se debió al efecto combinado de la inhibina y el estradiol sobre la secreción hipofisiaria de FSH, que afecta al crecimiento y desarrollo de los folículos menores de 5 mm de diámetro, lo que también reduce su sensibilidad a las gonadotropinas (Ptaszynska, 2008). El folículo dominante es el primero de un grupo de folículos en expresar receptores de LH en las células de la granulosa. Los receptores de FSH se encuentran solo en las células de la granulosa, mientras que los receptores de LH se encuentran en las células de la granulosa y la teca. Durante los periodos de baja secreción hipofisiaria de FSH, el folículo dominante ocupa más receptoras de LH en sus células de la granulosa y el crecimiento folicular se vuelve dependiente de LH, lo que da como resultado la incapacidad del folículo subordinado para producir grandes cantidades de receptores de LH, se atresia, esto ocurre cuando el folículo alcanza un diámetro de 6.8 a 8 mm (Adams *et al.*, 2008).

### **4.8.3. Dominancia**

En esta fase se caracteriza por un rápido crecimiento folicular y maduración del ovocito en el folículo dominante, alcanzando un diámetro de 15 mm, las sustancias que produce suprimen la liberación gradual de FSH e inhibe la emergencia de la siguiente onda folicular al mismo tiempo induce la atresia de los folículos restantes, dando origen al incremento pulsátil de la LH hipofisiaria (Driancourt, 2001). Durante esta etapa, la LH puede estimular la teca interna para producir el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) siendo un potente estimulador de la angiogénesis. Bajo la influencia de VEGF, el folículo dominante mantiene un suministro de sangre que transporta las gonadotropinas necesarias para completar su crecimiento (Lucy, 2007).

Generalmente, en condiciones normales, el folículo con el mayor diámetro en la onda, en ausencia de cuerpo lúteo y producción máxima de LH se convertirá en el folículo elegido para la ovulación, esto ocurre cuando el diámetro del folículo está entre 17 y 20 mm, pero si el cuerpo lúteo está presente, los niveles de progesterona circulante bloquean el centro de picos hipotalámicos, lo que reduce la producción de LH causando la atresia del folículo dominante. Los niveles bajos de hormonas depresoras (estrógenos, inhibina, folistatina) que inhiben la actividad de la FSH permitirán que la FSH alcance un nuevo pico, desencadenando una nueva onda de crecimiento folicular (Vásquez y Olivera, 2010).

## **4.9. Ciclo estral**

La serie de eventos fisiológicos que ocurren entre un celo o estro y el siguiente, se denomina ciclo estral. En bovinos su duración normal es de 18 a 24 días, con una media de 21 días (Figura 3). Durante este tiempo ocurren cambios hormonales a través del eje que conecta el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios, lo que lleva a varios eventos fisiológicos y de comportamiento. Los ciclos incluyen el periodo de receptividad sexual (estro o celo), la ovulación y de los cambios adaptativos necesarios para proteger al embrión si ocurre la fertilización (Carvajal *et al.*, 2020).

## **4.10. Etapas del ciclo estral**

### **4.10.1. Estro**

En esta etapa la hembra acepta la copula o la monta de otra vaca. El estro es provocado por el aumento significativo de las concentraciones de estradiol producido por el folículo preovulatorio y por la ausencia de un cuerpo lúteo. La duración de esta etapa es de 8 a 18 horas (Sepúlveda y Roderó, 2003).

### **4.10.2. Metaestro**

Fase posterior al estro, dura de cuatro a cinco días, durante esta etapa es cuando ocurre la ovulación e inicia la formación del cuerpo lúteo. Después de la ovulación, se observa una depresión en el área ocupada por el folículo ovulatorio, seguida por la aparición de un cuerpo hemorrágico, durante esta fase, la concentración de progesterona comienza a elevarse hasta alcanzar un nivel superior a 1 ng/ml, momento en el que el cuerpo lúteo se considera maduro. De la misma manera, se toma como criterio el aumento de la concentración de progesterona para determinar el final del metaestro y el inicio del diestro. Los eventos hormonales notables durante este periodo incluyen el pico de FSH después de la ovulación, que desencadena la primera oleada de desarrollo folicular (Delgado *et al.*, 2011).

### **4.10.3. Diestro**

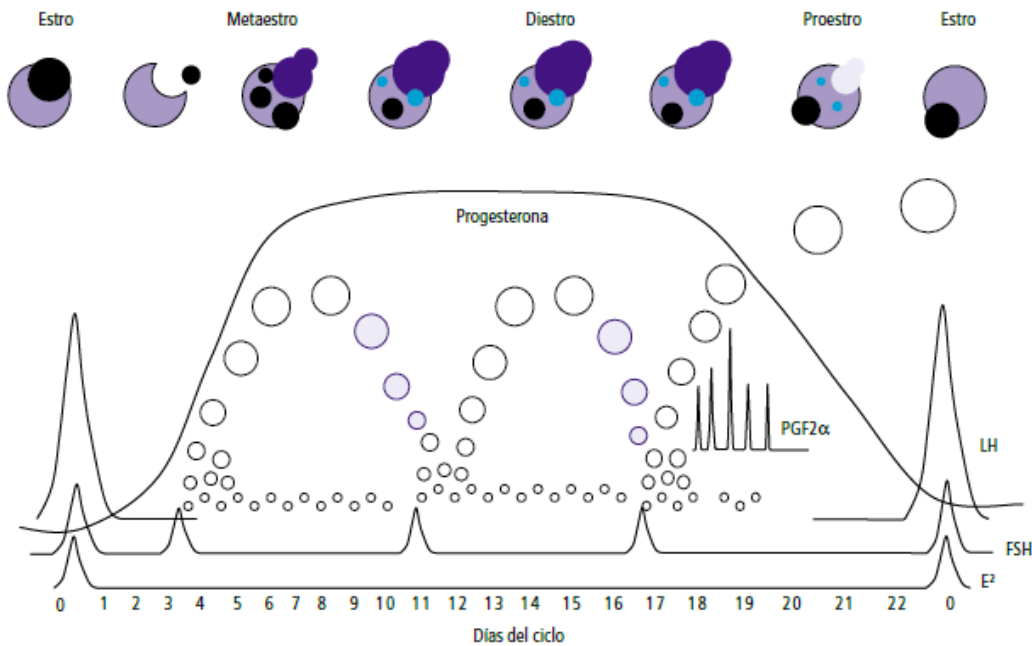
Esta es la etapa más larga del ciclo estral, con una duración de 12 a 14 días. En esta fase, el cuerpo lúteo mantiene su plena función, lo que se manifiesta por una concentración de progesterona en sangre superior a 1 ng/ml. Durante esta fase se pueden encontrar folículos de diferentes tamaños debido a las oleadas foliculares. Después de la exposición a la progesterona, el endometrio comienza a secretar  $\text{PGF}_{2\alpha}$  de forma pulsátil, terminando la vida útil del cuerpo lúteo y el diestro (Sepúlveda y Roderó, 2003).

### **4.10.4 Proestro**

Esta etapa tiene una duración de dos a tres días se caracteriza por la falta de un cuerpo lúteo funcional y por el desarrollo y maduración del folículo ovulatorio. Un evento hormonal característico en esta fase es un aumento en la frecuencia de los pulsos secretores de LH, lo que conduce a la maduración final del folículo ovulatorio



y un aumento en el estradiol sérico, lo que conduce a la presentación del celo (Delgado *et al.*, 2011).



**Figura 3.** Etapas del ciclo estral (Hernández, 2016).

#### 4.11. Formación del cuerpo lúteo

El CL surge de las células del folículo ovulatorio, compuesta por tejido heterogéneo, células endoteliales, miocitos, células inmunes, fibroblastos y por células luteales grandes, que representan el 40.2% del tejido luteal y por células luteales esteroideogénicas pequeñas. La LH es la principal hormona luteinizante, responsable de estimular la luteinización de las células de la teca y la granulosa del folículo preovulatorio (Pinel y Pérez, 2017). Durante la formación del cuerpo lúteo (luteinización) se produce una serie de cambios morfológicos y bioquímicos que permiten que las células foliculares se transformen en células luteales, estos cambios culminan con un cuerpo lúteo funcional al séptimo día (Delgado *et al.*, 2012). El volumen del cuerpo lúteo, el número y funcionalidad de las células grandes son los principales factores determinantes para la producción de progesterona. (Aréchiga-Flores *et al.*, 2019).

El CL produce factores vasoactivos que regulan el flujo sanguíneo, como es la producción de progesterona, óxido nítrico, endotelina-1, angiotensina-II y prostaglandina  $F_{2\alpha}$ , la secreción de progesterona en el ganado bovino incrementa conforme se presenta la angiogénesis y la proliferación de las células lúteas durante los primeros 6 días después de la ovulación, el aumento puede ir de 1 ng/ml tres días después de la ovulación a 3 ng/ml a los 6 días post-ovulación, alcanzando la mayor concentración sanguínea de los 10 a los 14 días, posteriormente hay reducción de progesterona después del día 16, hasta registrar el nivel que tenía al principio del ciclo causado por la prostaglandina  $F_{2\alpha}$ , hormona encargada de su regresión (Aréchiga-Flores *et al.*, 2019).

Durante la fase lútea media, estas altas concentraciones circulantes de progesterona regulan a la baja los receptores de progesterona en el epitelio luminal del endometrio (Kimmins y MacLaren, 2001). Estos son cambios claves que permiten la regulación del aumento o disminución sincrónica de los genes endometriales necesarios para iniciar la receptividad uterina, independientemente del estado gestacional del animal, la luteólisis del CL ocurre cuando la señal de reconocimiento materno de embarazo (interferón Tau) no se detecta en cantidades suficientes el día 16 del ciclo estral (Forde *et al.*, 2011). Esto reduce significativamente las concentraciones circulantes de progesterona y las concentraciones de estradiol aumentan, se estimula la GnRH en el hipotálamo cuando el animal vuelve a la fase folicular del ciclo (Aréchiga-Flores *et al.*, 2019). El factor principal que determina la duración del ciclo y la presencia de dos, tres o cuatro ondas en un ciclo parece ser la vida útil del cuerpo lúteo (Wiltbank *et al.*, 2018)

#### **4.12. Ultrasonografía**

El uso de ultrasonido (US) representa un avance tecnológico que proporciona nuevos conocimientos sobre la biología reproductiva, muchos estudios que utilizan imágenes de ultrasonido han investigado los procesos reproductivos relacionados con la función ovárica, uterina y fetal en el ganado (Acosta y Miyamoto, 2004).

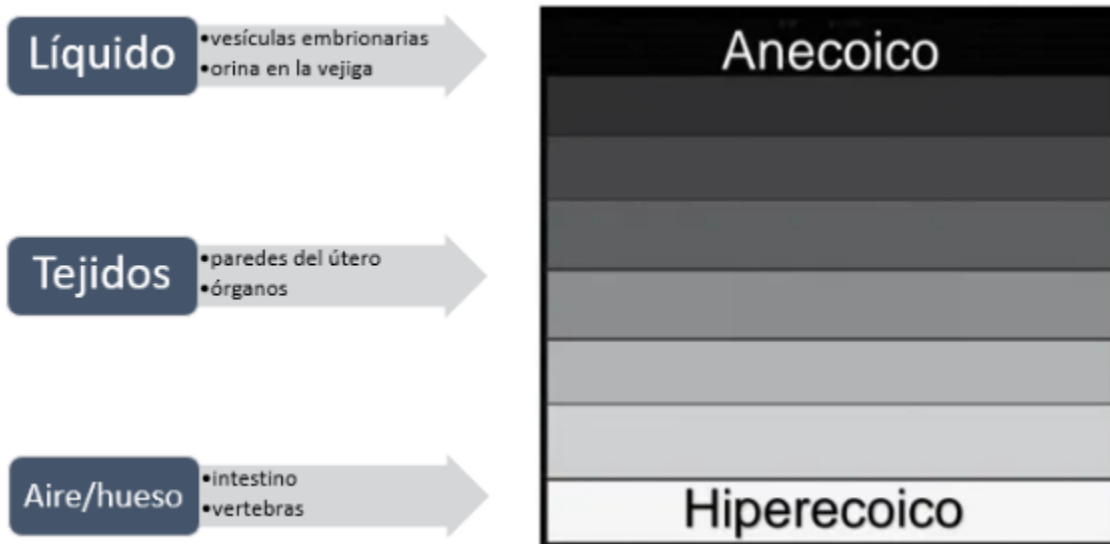
El US, es una tecnología de imagen basada en la emisión y recepción de ondas sonoras a frecuencias superiores a las que el oído humano puede percibir, la ecografía se puede definir como una serie de ondas mecánicas, generalmente longitudinales, causadas por vibraciones en cuerpos elásticos (cristales piezoeléctricos) y propagadas por un medio material (tejidos corporales) (Díez,1992).

Estas ondas de alta frecuencia son emitidas por un transductor que contiene una gran cantidad de cristales piezoeléctricos muy pequeños que vibran a su frecuencia natural al paso de la corriente eléctrica emitiendo las ondas de ultrasonido, hay tres grandes grupos de transductores o sondas adecuadas para diferentes usos; lineales, sectoriales y convexas, las imágenes generadas por sondas sectoriales y convexas son de forma piramidal, mientras que las generadas por transductores lineales producen imágenes rectangulares (Garibotto y Bianchi, 2001).

Las imágenes están formadas por una matriz de elementos fotográficos. Las imágenes en escala de grises se generan visualizando los ecos a medida que los elementos fotográficos (píxeles) regresan a transductor, y su brillo dependerá de la intensidad de los ecos captados por el transductor en el camino de retorno (Paolinelli, 2013).

#### **4.13. Escala de grises**

Las estructuras corporales están formadas por distintos tejidos, lo que crean múltiples interfases que se muestran en escala de grises en las imágenes digitales, y a la intensidad del brillo generada en una imagen de ultrasonido se denomina ecogenicidad. El elemento orgánico que mejor transmite las ondas de ultrasonido es el agua, por lo que produce imágenes de ultrasonido anecoicas (negras). En general, el tejido altamente celular es hipoecoico, debido al alto contenido de agua, mientras que el tejido fibroso es hiperecoico debido a la mayor cantidad de interfases presentes en ellas. (Villaseñor *et al.*, 2012; Figura 4).



**Figura 4.** Escala de ecogenicidad (Villaseñor *et al.*, 2012).

#### 4.14. Modos de ultrasonido

##### 4.14.1. Modo A (Amplitud)

Se utiliza un solo haz de US, la información recopilada se muestra gráficamente. El eje vertical representa la distancia y el eje horizontal representa la amplitud de los ecos, proporciona muy poca información y en la realidad no se utiliza (Díez, 1992).

##### 4.14.2. Modo B (Brillo)

Técnicamente genera de una imagen bidimensional de las señales recibidas por la sonda, correspondiente al plano que denominan al haz de luz emitidos por cada uno de los cristales piezoeléctricos colocados e alineados a lo largo de la superficie de la sonda (Mebarki *et al.*, 2019). La imagen resultante consta de escalas de grises que definen la atenuación de los tejidos subyacentes y el brillo de la imagen cambiará dependiendo de la amplitud o intensidad del eco ultrasónico (Wagner *et al.*, 2020).

##### 4.14.3. Modo M (Movimiento)

Consiste en la representación a lo largo del tiempo de la señal emitida y reciba por uno solo de los cristales piezoeléctricos de la sonda, esta no es una imagen

bidimensional, sino que representa el cambio en la atenuación al haz de la luz que se producen en un solo haz a lo largo del tiempo (Debertolis *et al.*, 2016).

#### **4.15.4. Doppler**

En 1982, Aloka anunció el desarrollo del Doppler a color en imágenes bidimensionales y en 1983 introdujo el primer equipo de Doppler a color en el mercado que pedía mostrar el flujo sanguíneo a color y en tiempo real (Carbelo *et al.*, 2019).

En el modo Doppler color, las diferencias de frecuencia se codifican como señales de colores sobre una imagen en modo B convencional. Permitiendo medir así la intensidad del flujo sanguíneo, es decir, la cantidad de células sanguíneas que se mueven en un vaso sanguíneo por unidad de tiempo, indicándose mediante diferentes colores, generalmente en tonos de rojo a amarillo y de azul a verde según la intensidad del flujo en cada punto del área evaluada (Pugliesi, 2018).

Es claro que la ecografía Doppler es muy útil para observar la ecogenicidad con el flujo sanguíneo local, de modo que se puede evaluar fácilmente el estado fisiológico del útero, ovarios y el diagnóstico de gestación temprano (Quintela *et al.*, 2012).

Siqueira *et al.* (2013) informaron una alta precisión y casi el 100 % de efectividad en el diagnóstico temprano en vacas lecheras no preñadas a los 20 días después del servicio, utilizando solo la vascularización del CL como criterio (Pugliesi *et al.*, 2018).

### **4.16. Modos Doppler**

#### **4.16.1. Doppler continuo**

El transductor envía y recibe la señal simultáneamente, capturando los flujos y movimientos a lo largo del haz, sin determinar la posición del o profundidad del vaso. La ventaja es que no tiene límite de velocidad para su medición, permitiendo evaluar velocidades muy altas, como ocurre en las cavidades cardiacas (Paolinelli, 2013).

#### **4.16.2. Doppler pulsado**

El transductor utiliza un cristal único que emite ondas de ultrasonido de manera periódica y actúa como receptor durante los tiempos de no emisión, siendo un

método selectivo en profundidad permitiendo analizar las características de flujo sanguíneo pequeño situado en un punto deseado (Maulik, 2023).

En el sistema pulsado, los cambios de frecuencia o las velocidades se pueden codificar de distintas maneras, dando origen a tres técnicas;

#### **4.16.3. Doppler Espectral**

El modo es utilizado para obtener una estimación cuantitativa de la velocidad de la sangre en una ubicación especial o deseada en un vaso sanguíneo en particular (Gran *et al.*, 2009).

#### **4.16.4. Doppler Color**

Codifica la velocidad media del flujo sanguíneo en colores, de acuerdo con una determinada escala, suponiéndola a la imagen Modo B (bidimensional en blanco y negro). La zona de muestreo está determinada por el ROI (caja de color). El color muestra la dirección del flujo. El del margen superior de la columna siempre representa el flujo hacia el transductor y el contrario el flujo que se aleja del transductor, mientras mayor sea la velocidad, el color es más brillante (Paolinelli, 2013).

#### **4.16.5. Doppler Poder o Power Angio**

Indica la potencia o intensidad del espectro de flujo, en este caso la dirección y la velocidad del flujo sanguíneo normalmente no se recupera. La aplicación típica de este modo se da en evaluaciones de órganos con flujo sanguíneo lento, cuanto mayor sea el número de glóbulos rojos en movimiento, mayor será la información (Robinson, 2007).

### **4.17. Aplicaciones del ultrasonido en la reproducción bovina**

El uso de la ultrasonografía en la reproducción bovina es un avance tecnológico que ha revolucionado el conocimiento sobre la biología reproductiva en la hembra (Fricke, 2002a). Su uso en la ganadería es relativamente nuevo, habiéndose extendido desde la década de 1990 cuando aparecieron por primera vez en el mercado pequeños escáneres portátiles, accesibles y con una imagen de calidad (Quintela *et al.*, 2012).

Entre las múltiples ventajas del examen ecográfico es la visualización de los ovarios y sus estructuras internas, lo que permite monitorear la dinámica de los folículos y diagnosticar diversas patologías uterinas y ováricas, como quistes, endometritis y piómetra, por lo que no solo se emplea para realizar diagnósticos de gestación temprana con más del 95% de eficiencia en el día 26 después del servicio, sino que también es útil para la detección de muerte embrionaria temprana y la determinación del sexo fetal (Yáñez *et al.*, 2022).

Su uso también se ha intensificado por los especialistas en esta área para aspiraciones foliculares (Ovum pick up), desarrollar protocolos de inducción o sincronización de celos, establecer protocolos de superovulación con mayor precisión y predecir el número de embriones recolectados (Fricke y Lamb, 2002).

En los últimos 20 años, la ecografía en modo Doppler se ha convertido en una herramienta muy útil en el área reproductiva, demostrando ser más eficaz y una mejor alternativa a otros métodos invasivos para la evaluación del flujo sanguíneo (Yáñez *et al.*, 2022).

Hoy en día se pueden llevar a cabo mediante el uso del modo Doppler durante un examen transrectal rutinario, gracias a su incorporación a los equipos de ultrasonografía, de esta manera es posible estudiar y evaluar los cambios que tienen lugar en el flujo vascular a lo largo del ciclo estral y de la gestación (Herzog y Bollwein, 2007).

Mediante el empleo de la ecografía Doppler se encontró que, en las paredes de los folículos preovulatorios existe una notable desigualdad en la vascularización con aquellos folículos anovulatorios, esto debido a la formación de la red vascular en la teca interna (Pugliesi *et al.*, 2018) la vascularización a nivel folicular viene por parte de la arteria espiral, aumentando alrededor del folículo a medida que avanza el crecimiento folicular, para llegar a un máximo coincidiendo con la ovulación (Matsui y Miyamoto, 2009).

La evaluación ecográfica del estado funcional del CL es un aspecto importante para el manejo reproductivo, la evaluación del tamaño luteal se correlaciona

positivamente con las concentraciones circulantes de progesterona, por lo tanto, la evaluación de la vascularización en el tejido lúteo puede representar con mayor precisión la funcionalidad del CL (Pugliesi *et al.*, 2018).

Aunque existe controversia sobre si un CL de conformación grande está asociado o no con concentraciones plasmáticas elevadas de P4 ya que algunos investigadores así lo han establecido, al menos en los primeros días de gestación, y se ha asociado la intensidad de la expresión de estro con el tamaño folicular, el volumen del CL y las concentraciones plasmáticas de progesterona (Vejarano y Hernández, 2021). Y el aumento de las células de la granulosa antes de la ovulación puede dar lugar a un mayor número de células luteales grandes, seguido de un aumento en el tamaño del CL y por ende un incremento en la secreción de P4 (Sartori *et al.*, 2002).

Pugliesi *et al.* (2018) detalló algunas observaciones que se han encontrado en el estudio de la formación del cuerpo lúteo por medio de la función Doppler.

- 1) El cambio en el suministro de sangre a un folículo individual se relaciona estrechamente con la dinámica del crecimiento folicular y la atresia.
- 2) El flujo sanguíneo local detectado en la teca externa de los folículos maduros aumenta rápidamente alrededor del inicio del pico de LH y es más activo antes de la ovulación.
- 3) El suministro de sangre al CL en desarrollo aumenta en paralelo con el volumen del CL y las concentraciones de progesterona en plasma.
- 4) El flujo sanguíneo local que rodea el CL maduro aumenta de forma aguda antes del inicio de la luteólisis o respuesta a la  $PGF_{2\alpha}$  uterina, así la como exógena.



## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Localización del área de estudio

El estudio se realizó en las instalaciones del laboratorio de reproducción bovina perteneciente al criadero militar de ganado Santa Gertrudis Chihuahua, Longitud 105°43'48.014 W, Latitud 27°46'39.633 N. La zona se caracteriza por tener un clima seco semiárido con una temperatura media anual de 23 °C, con una mínima de -4 °C, con una precipitación pluvial de 200 a 400 mm, con un promedio anual de 41 días de lluvia, y una altitud de 1,414 msnm (INEGI, 2020).

### 5.2. Descripción de los animales experimentales

El estudio se realizó en los meses junio y julio del año 2022. Para la selección de los animales a experimentar, se seleccionaron 3 vacas cíclicas de primer parto de la raza Wagyu, con una condición corporal de 7 (escala de 1 al 9) (Wagner *et al.*, 1988) de 3 años de edad, la alimentación de las vacas era a libre pastoreo con pastos nativos de la zona, (*Bouteloua gracilis* o pasto navajilla), suplementadas con sales minerales (Tecnofos 4:40) y agua a libre acceso.

Para la sincronización del celo, a los animales se les aplicó una dosis única de prostaglandina (Dinoprost, Lutalyce, Zoetis México), estas respondieron simultáneamente 48 horas después de la aplicación.

### 5.3. Evaluación ecográfica

Las evaluaciones ecográficas se comenzaron a realizar al momento de la presentación del celo, dada la ovulación se les dio el seguimiento ecográfico en el ovario ovulado cada 24 horas hasta la formación estructural del CL. Una vez visualizando la formación total del CL, se realizaron exámenes ecográficos diariamente cada 24 horas culminando hasta la observación de la regresión luteal, se examinó el ovario, con un movimiento lento y continuo de la sonda sobre la superficie del CL hasta que se visualizara toda la circunferencia de la estructura, o siguiendo las técnicas de ultrasonografía documentadas por (Bollwein *et al.*, 2016), posterior a esto, se activa la función color Doppler en el equipo de ultrasonido para tomar y guardar un clip de video de las señales Doppler de la irrigación presente en

la memoria interna del equipo, que posteriormente fue evaluado en un equipo de cómputo.

Todos los exámenes ecografías fueron realizadas por una sola persona, utilizando un ecógrafo Color Doppler de la marca EXAGO (IMV), conectado a un transductor lineal de 7.5 Mhz. El equipo se calibró con los mismos ajustes de frecuencia, patrones de ganancia, color y brillo, manteniéndose constantes dichos ajustes durante todo el estudio.

#### **5.4. Análisis de imagen y cuantificación de pixeles**

Para la selección de la imagen color Doppler a cuantificar en el clip de video se tomó el método de selección usado por (Guimarães *et al.*, 2015) en la cual, la imagen que se visualizara con la más alta irrigación fue la seleccionada para analizar. Se cuantificó midiendo el área total de pixeles coloreados en relación con el área total del CL vista en imágenes transversales en modo B, usando el programa informático de análisis de imagen Imagej (V.1.51n) configurando la escala (número de pixeles = 1 mm), los pixeles cuantificados fueron expresados en milímetros cuadrados (mm<sup>2</sup>) y la información fue almacenada en una base de datos en Microsoft Excel 2003.

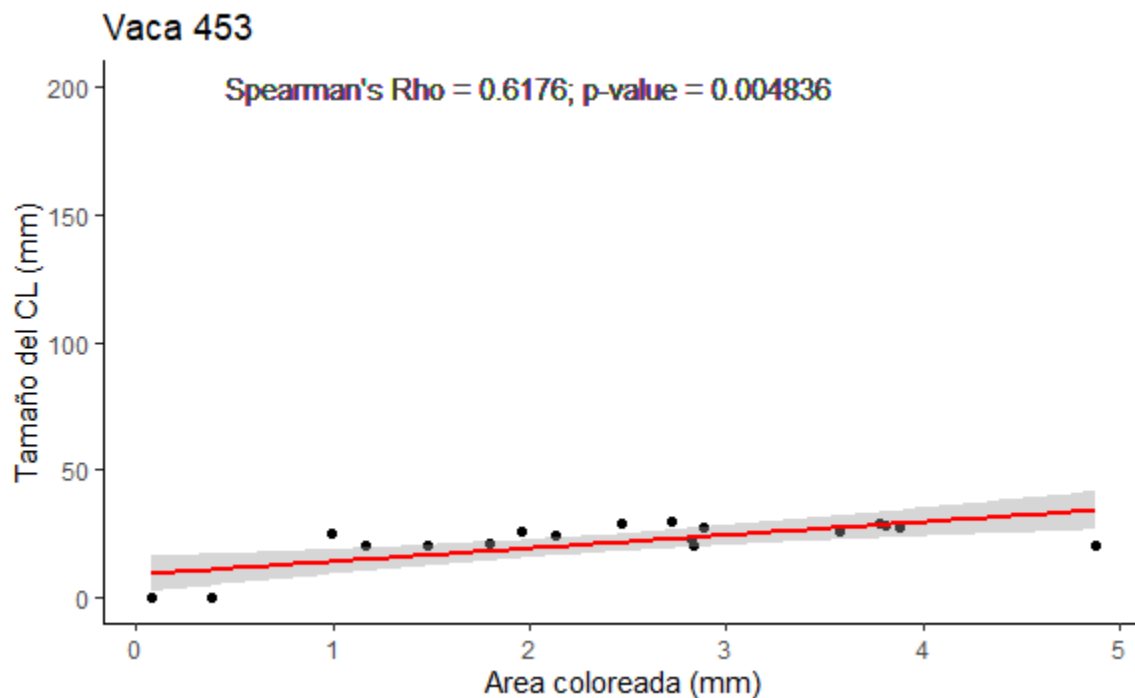
#### **5.5. Análisis estadístico**

Los datos fueron analizados previamente con una prueba de “Shapiro test” para determinar la normalidad. Para evaluar la correlación entre tamaño del cuerpo lúteo y área colorada Doppler se realizó una prueba de “correlación Spearman”. Se consideró una diferencia estadística a  $p < 0.05$ . Todos los procedimientos fueron realizados con el programa R Studio versión 4.0.5.

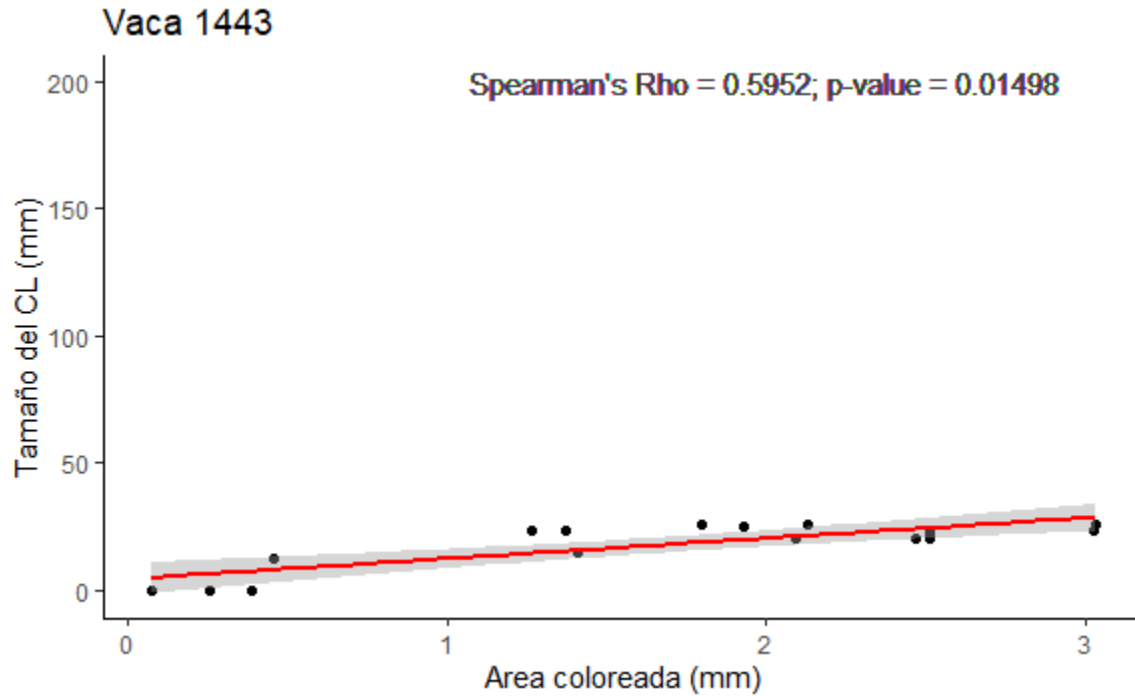
## 6. RESULTADOS

### 6.1. Relación entre el tamaño de cuerpo lúteo y Área coloreada Doppler

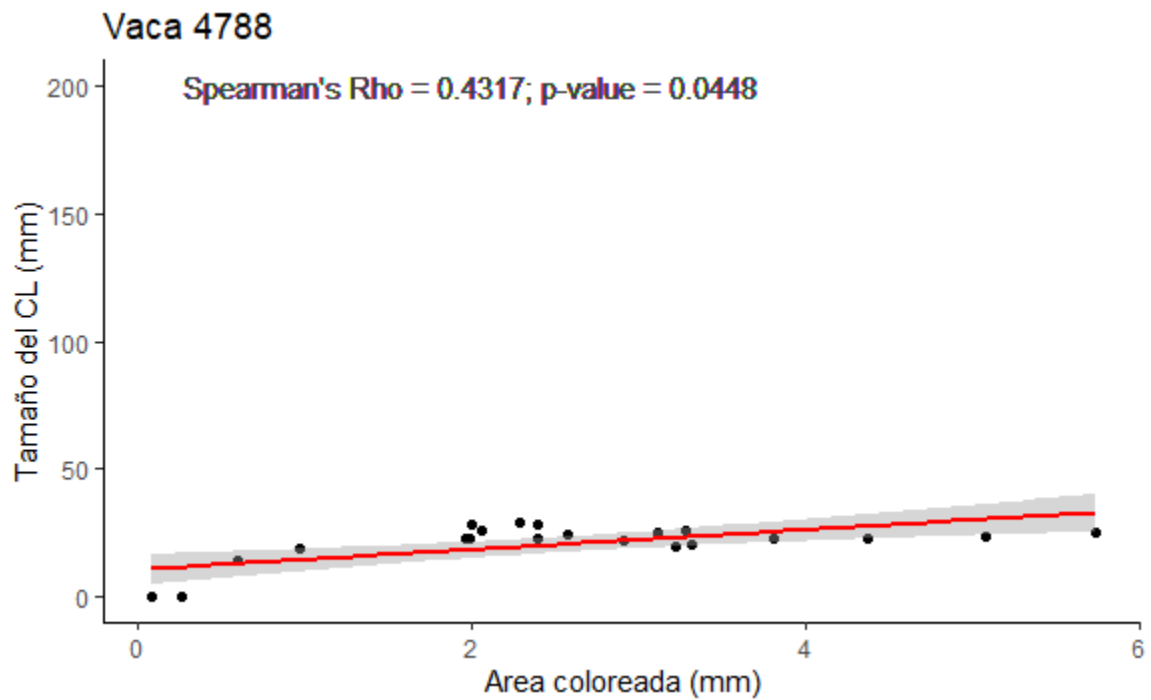
En las figuras 1, 2 y 3, se muestra la correlación entre el tamaño de cuerpo lúteo con respecto al área coloreada Doppler en los animales experimentales. Se muestra que en todos los animales existió una correlación positiva moderada con rangos de Spearman's Rho entre 0.43 a 0.61. En todas las hembras fue significativa esta correlación donde en 2/3 fue altamente significativa ( $p < 0.01$ ) y en 1/3 fue  $p < 0.05$ .



**Figura 5.** Correlación Spearman entre el tamaño del cuerpo lúteo (mm) con el Área coloreada (mm) en la hembra #453.



**Figura 6.** Correlación Spearman entre el tamaño del cuerpo lúteo (mm) con el Área coloreada (mm) en la hembra #1443.



**Figura 7.** Correlación Spearman entre el tamaño del cuerpo lúteo (mm) con el Área coloreada (mm), en la hembra #4788.

## 7. DISCUSIÓN

La industria de la producción de carne bovina en México ha crecido significativamente durante la última década, en 2019, tuvo 16.7 millones de cabezas de ganado y sacrificó 6.3 millones de cabezas de los que se produjeron 2.03 millones de toneladas de carne (Lara y Keypers, 2019). Pero, en 2020 la producción de carne alcanzó un máximo histórico al superar los dos millones de toneladas, lo que representó un incremento del 2.57 % con respecto al 2019 (SADER, 2021). En este sentido, el ganado Wagyu ha sido una raza emergente por sus excelentes características en la calidad de su carne. La característica más destacable de la carne de Wagyu es su intenso marmoleado, el alto contenido de grasa intramuscular le da mejor textura, jugosidad y por lo tanto la hace más sabrosa, por esta razón, la carne de Wagyu se exporta cada vez más a los mercados mundiales y crea un nuevo valor de mercado como uno de los productos alimenticios más lujosos del mundo (Motoyama *et al.*, 2016).

En la industria ganadera actual, donde los márgenes comerciales se reducen, la eficiencia reproductiva es especialmente importante, porque la rentabilidad depende mucho de ella (Yáñez *et al.*, 2022). Por lo tanto, es necesario entender de manera precisa su reproducción. En este sentido, el uso de la ecografía con sus diferentes modalidades como método de diagnóstico en bovinos ha venido aumentando en las últimas décadas y al ser una técnica no invasiva se ha adaptado muy bien a los lineamientos de bienestar animal (Beal *et al.*, 1992), permitiendo múltiples usos desde la determinación de la dinámica folicular, pasando por el diagnóstico de no gestación hasta la determinación de la viabilidad del cuerpo lúteo y embrionario (Herzog y Bollwein, 2007). El uso de la ecografía se ha centrado en la utilización del Modo “B” la cual se centra en una imagen bidimensional, ésta consta de escalas en grises que determinan la refracción del tejido observado por dicha sonda y está determinada por la intensidad del eco emitido (Wagner *et al.*, 2020). Sin embargo, existen ciertas limitaciones debido a que no es posible determinar cambios hemodinámicos de los tejidos con los métodos habituales de ecografía con sus modos “B” y “M” que solo permite determinar sus cambios de ecogenicidad (escalas de grises) que van de anecoicas a hiperecoicas. Afortunadamente, en años

recientes se ha empezado a incorporar el uso de la ecografía Doppler que nos permite determinar el flujo sanguíneo de los órganos con la finalidad de determinar su vascularidad, y con esto determinar los cambios hemodinámicos durante el ciclo estral para poder determinar la funcionalidad del CL (Yañes *et al.*, 2021). Es una técnica relativamente nueva en la medicina veterinaria y esta técnica utiliza la diferencia entre las frecuencias de las ondas reflejadas y las ondas enviadas por el transductor. En la circulación sanguínea, esta diferencia se debe al movimiento de los glóbulos rojos, lo que contribuye a una diferencia positiva (mayor frecuencia) o negativa (menor frecuencia) basadas en el movimiento (Acosta y Miyamoto, 2004).

En nuestro estudio, en todos los animales se pudo observar una relación entre el tamaño del cuerpo lúteo con el área coloreada Doppler que fue de 0.43 – 0.61 Rho;  $p < 0.05$ . Acosta *et al.* (2002), mencionan que el cuerpo lúteo va experimentado a lo largo de su vida variaciones respecto al volumen e irrigación. Lo cual pudimos constatar en nuestro estudio donde observamos variaciones respecto al área Doppler que se observó respecto al tamaño del CL. Se ha determinado que existe diferencias de perfusión sanguínea uterina entre el período anterior y posterior al pico de LH, debido a que el estradiol y la LH están implicadas en el incremento de flujo sanguíneo hacia el folículo dominante (Acosta *et al.*, 2003) y en el diestro, el flujo mantiene su ritmo más bajo pero constante (Pugliesi *et al.*, 2018). Esto pudo estar asociado a los cambios que observamos a la mitad del ciclo, 10 días de la manifestación de celo, donde se observa un mayor tamaño del CL y una mayor área Doppler. Esto concuerda con lo mencionado por Pugliesi *et al.* (2018), quienes describen que el suministro de sangre al CL en desarrollo aumenta en paralelo con el volumen del CL y las concentraciones de progesterona en plasma. Nuestros datos son importantes debido a que se ha determinado una correlación entre el área Doppler con respecto a la vascularización del cuerpo lúteo, lo cual está relacionado a una adecuada circulación sanguínea a esta estructura (Vecchio *et al.*, 2012). Además, pudimos observar la relación entre el tamaño del cuerpo lúteo respecto a la vascularización del CL, este fenómeno lo ha reportado Scully *et al.* (2015), quienes mencionan una variación del tamaño del cuerpo lúteo entre animales gestantes y no gestantes alrededor del día 18 postinseminación, está relacionado a

una menor vascularización. En este sentido, pudimos observar una disminución del área Doppler después del día 16 del comienzo del ciclo, lo cual está relacionado a la liberación de las prostaglandinas específicamente  $\text{PGF2}\alpha$ , relacionada con la disminución del tamaño del cuerpo lúteo. Esto debido a una disminución del flujo sanguíneo causado por la vasoconstricción de esta estructura causando la regresión del tejido lúteo (Lüttgenau y Bollwein, 2014). Se ha postulado que el flujo sanguíneo local que rodea el CL maduro aumenta de forma aguda antes del inicio de la luteólisis o respuesta a la  $\text{PGF2}\alpha$  uterina, así la como exógena (Pugliesi *et al.*, 2018). Por lo tanto, el desarrollo normal del CL y su capacidad para producir factores de crecimiento, factores angiogénicos, sustancias vasoactivas y P4 dependen principalmente de su perfusión sanguínea (Uribe-Velásquez *et al.*, 2011).

## **8. CONCLUSIÓN**

El uso de la ecografía Doppler es una técnica no invasiva que se ajusta a las nuevas tendencias mundiales de bienestar animal que nos proporciona una referencia importante respecto a la vascularización del cuerpo lúteo y su relación con su tamaño. Lo cual está directamente relacionado con los niveles de progesterona y nos ayuda a entender mejor los cambios hemodinámicos que suceden el cuerpo lúteo durante el ciclo estral de las vacas Wagyu.



## 9. LITERATURA CITADA

- Acosta, T. J., Hayashi, K. G., Ohtani, M., & Miyamoto, A. (2003). Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reproduction* 125: 759-767.
- Acosta, T. J., Miyamoto, A. (2004). Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. *Animal reproduction science*, 82, 127-140.
- Adams, G. P., Jaiswal, R., Singh, J., & Malhi, P. (2008). Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*, 69(1), 72-80.
- Aréchiga-Flores, C., Cortés-Vidauri, Z., Hernández-Briano, P., Flores-Flores, G., Rochín-Berumen, F., & Ruiz-Fernández, E. (2019). Revisión: Función y regresión del cuerpo lúteo durante el ciclo estral de la vaca. *Abanico veterinario*, 9.
- Beal WE, Perry RC, Corah LR (1992). The use of ultrasound in monitoring reproductive physiology of beef cattle. *Journal of Animal Science* 70: 924-929. <https://doi.org/10.2527/1992.703924x>.
- BMeditores. (26 de marzo 2019). Wagyu: La Mítica Raza del Japón. Google Chrome. BM Editores, SA de CV. Recuperado de <https://bmeditores.mx/>
- Bollwein, H., Heppelmann, M., & Lüttgenau, J. (2016). Ultrasonographic Doppler use for female reproduction management. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 32(1), 149-164.
- Brooks, K.; Burns, G. y Spencer, T. E. (2014). Conceptus Elongation in Ruminants: Roles of Progesterone, Prostaglandin, Interferon Tau and Cortisol. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 5 (1), 1-12.
- Carbelo, M. Á., Sosa, L. E., González, C. R. (2019). Historia y desarrollo del ultrasonido en la Imagenología. *Acta Médica del Centro*, 13(4), 601-615.

- Carvajal, A., Martínez, E., Tapia, M., Ayke, I. T. (2020). El ciclo estral en la hembra bovina y su importancia productiva. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, 246.
- Debertolis, L., Mari, G., Merlo, B., Merbach, S., Schoon, H. A., Iacono, E., & Bollwein, H. (2016). Effects of induced endometritis on uterine blood flow in cows as evaluated by transrectal doppler sonography. *Journal of Veterinary Science*, 17(2), 189–197.
- Delgado, P. A. M., Cuélla, N. R., Sánchez, C. M. G., Rojas, E. C. C. (2011). Dinámica folicular en la vida reproductiva de la hembra bovina. *Revista Veterinaria y Zootecnia (On Line)*, 5(2), 88-99.
- Díaz, P. U., Belotti, E. M., Notaro, U. S., Salvetti, N. R., Leiva, C. J. M., Durante, L. I., ... & Ortega, H. H. (2019). Hemodynamic changes detected by Doppler ultrasonography in the ovaries of cattle during early development of cystic ovarian disease. *Animal Reproduction Science*, 209, 106164.
- Díez Bru, N. (1992). Principios básicos de la ecografía. *Clínica veterinaria de pequeños animales*, 12(3), 0138-147.
- Driancourt M. A. (2001). Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*; 55: 1211-1239
- Dubuc, J., Houle, J., Rousseau, M., Roy, J. P., & Buczinski, S. (2020). Accuracy of corpus luteum color flow Doppler ultrasonography to diagnose nonpregnancy in dairy cows on day 21 after insemination. *Journal of dairy science*, 103(2), 2019-2023.
- Estill, C. T. (2021). Initiation of puberty in heifers. *Bovine Reproduction*, 258-268.
- Facioli, F. L., De Marchi, F., Marques, M. G., Michelon, P. R., Zanella, E. L., Caires, K. C., & Zanella, R. (2020). The outcome and economic viability of embryo production using IVF and SOV techniques in the Wagyu breed of cattle. *Veterinary Sciences*, 7(2), 58

FAOSTAT. (2020). Food and agriculture data. Google Chrome. Food and Agriculture Organization of the United Nations Recuperado de <http://www.fao.org/faostat/en/#home>.

Fontes, P. L., & Oosthuizen, N. (2022). Applied use of Doppler ultrasonography in bovine reproduction. *Frontiers in Animal Science*, 3, 912854.

Forde, N., Beltman, M. E., Lonergan, P., Diskin, M., Roche, J. F., Crowe, M. A. (2011). Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Animal reproduction science*, 124 (3-4), 163-169.

Fricke, P. M. (2002a). Scanning the future Ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 85(8), 1918-1926.

Fricke, P. M., Lamb, G. C. (2002b). Practical applications of ultrasound for reproductive management of beef and dairy cattle. *Proceedings: Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle*, Manhattan, KS, 228-45.

Galina Carlos, y Javier Valencia. 2008. *Reproducción de los animales domésticos*. Editado por Limusa. Limusa. México.

Garibotto, G., Bianchi, G. (2001). El ultrasonido como herramienta en la industria animal. *Revista de la EEMAC*. Cangüé, 23, 12-16.

Gotoh, T., Takahashi, H., Nishimura, T., Kuchida, K., Mannen, H. (2014). Meat produced by Japanese Black cattle and Wagyu. *Animal Frontiers*, 4(4), 46–54.

Gran, F., Jakobsson, A., & Jensen, J. A. (2009). Adaptive spectral Doppler estimation. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, 56(4), 700-714.

Greenwood, P. L. (2021). An overview of beef production from pasture and feedlot globally, as demand for beef and the need for sustainable practices increase. *Animal*, 15, 100295.

Greenwood, P. L. (2021). An overview of beef production from pasture and feedlot globally, as demand for beef and the need for sustainable practices increase. *Animal*, 15, 100295.

Guimarães, C. R. B., Oliveira, M. E., Rossi, J. R., Fernandes, C. A. C., Viana, J. H. M., & Palhao, M. P. (2015). Corpus luteum blood flow evaluation on Day 21 to improve the management of embryo recipient herds. *Theriogenology*, 84(2), 237-241.

Hafez, E. S. E. (2002). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. McGraw-Hill Interamericana.

Henao, G., Trujillo, L. E. (2000). Establecimiento y desarrollo de la dominancia folicular bovina. Revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 13(2), 108-120.

Hernández, C. J. (2016). *Fisiología clínica de la reproducción de bovinos lecheros*. Primera edición

Herzog K, Bollwein H (2007). Application of Doppler ultrasonography in cattle reproduction. *Reproduction of Domestic Animals* 42: 51-58. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00903.x>.

Herzog, K., Bollwein, H., (2007). Application of Doppler ultrasonography in cattle reproduction. *Reproduction of Domestic Animals* 42: 51-58.

Hirooka, H., Oishi, K. (2018). Economic values for production and reproduction traits of Japanese Black (Wagyu) cattle from a bio-economic model. In *Proceedings of the 11th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Auckland, New Zealand (pp. 11-16).

Inagaki, S., Amano, Y., Kumazawa, K. (2017). Identification and characterization of volatile components causing the characteristic flavor of wagyu beef (Japanese Black cattle). *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(39), 8691-8695.

INEGI. (2020). Recuperado el 11 de octubre del 2023 de <https://www.inegi.org.mx>

Kimmins, S., MacLaren, L. A. (2001). Oestrous cycle and pregnancy effects on the distribution of oestrogen and progesterone receptors in bovine endometrium. *Placenta*, 22(8-9), 742-748.

Lara, G., Kuypers, K., 2019. Mexico. Livestock and products annual. USDA Foreign Agricultural Service GAIN Report Number MX9027. USDA Foreign Agricultural Servicesader, Washington, DC, USA.

Lenis Sanín, Y. Y., Tamayo Arango, L. J., Rodríguez Osorio, N., Duque Muñoz, L., Naranjo Nicholls, J. I., Carrillo González, D. F., Tarazona Morales, A. M. (2014). Reproducción de la vaca: manual didáctico sobre la reproducción, la gestación, la lactancia y el bienestar de la hembra bovina. Corporación Universitaria Remington.

Lucy MC. 2007. The bovine dominant ovarian follicle. *Journal of Animal Science* 85: E89-E99.

Lüttgenau J, Bollwein H (2014). Evaluation of bovine luteal blood flow by using color Doppler ultrasonography. *Reproductive Biology* 14: 103- 109. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2014.03.003>.

Matamoros, R. (2017). Neuroendocrinología en la hembra. *Fundamentos de fisiología y endocrinología reproductiva en animales domésticos*, 55.

Matsui, M., Miyamoto, A. (2009). Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: practical use for reproductive management in the cow. *Vet. J.*, 181(3), 232–240.

- Maulik, D. (2023). Spectral Doppler: Basic principles and instrumentation. In Doppler ultrasound in obstetrics and Gynecology Cham: Springer International Publishing. (pp. 21-37).
- Mebarki, M., Kaidi, R., Azizi, A., Basbaci, M. (2019). Comparative efficacy of two-dimensional mode and color Doppler sonography in predicting gender of the equine fetus. *Veterinary World*, 12(2), 325–330.
- Moore, D., Harden, K., Sampio, F., Miiler, G., McCullough, K., Calvo, M., Mitloehner, F., Rice, E., Mario, A., Lima, R., Hamiltom, A., Arnot, C. (2021). La Importancia de la Producción Pecuaria y la Proteína Animal: La Perspectiva del Hemisferio Occidental. *IICA*, (2), P.59. <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/16954/BVE21068221e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Motoyama, M., Sasaki, K., Watanabe, A. (2016). Wagyu and the factors contributing to its beef quality: A Japanese industry overview. *Meat Science*, 120, 10-18.
- Palma G. 2008. Biotecnología de la reproducción. Segunda edición. Ed. Reprobiofec. Córdoba. Pp 73- 90.
- Paolinelli, G. P. (2013). Principios físicos e indicaciones clínicas del ultrasonido doppler. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 24(1), 139-148.
- Paul, A. K. (2013) Wagyu cattle: A probability to introduce as a new breed in Bangladesh.
- Pinel, R. M., Pérez, P. S. (2017). Fundamentos de fisiología y endocrinología reproductiva en animales domésticos. RIL editores.
- Ptaszynska M. (2008). Compendium de reproducción animal. Octava edición. Internet internacional.

- Pugliesi, G., de Melo, G. D., Ataíde Jr, G. A., Pellegrino, C. A. G., Silva, J. B., Rocha, C. C., Binelli, M. (2018). Use of Doppler ultrasonography in embryo transfer programs: feasibility and field results. *Animal Reproduction*, 15(3), 239.
- Quintela, L. A., Barrio, M., Peña, A. I., Becerra, J. J., Cainzos, J., Herradón, P. G., Díaz, C. (2012). Use of ultrasound in the reproductive management of dairy cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 34-44.
- Rippe, C. A. (2009). El ciclo estral. In *Dairy Cattle Reproduction Conference* (pp. 111-116).
- Robinson, T. M. (2007). Basic principles of ultrasound. In *Physics for Medical Imaging Applications*. Dordrecht: Springer Netherlands. (101-110).
- SADER. (2021). Registró máximo histórica producción nacional de carne bovina en 2020. Google Chrome. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural Recuperado de <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/registro-maximo-historico-produccion-nacional-de-carne-bovina-en-2021>
- Sartori, R., Rosa, G., Wiltbank, M. 2002. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J Dairy Sci*. 85(11):2813-2822.
- Sasaki, Y., Uematsu, M., Kitahara, G., & Osawa, T. (2016). Reproductive performance of Japanese Black cattle: Association with herd size, season, and parity in commercial cow-calf operations. *Theriogenology*, 86(9), 2156-2161.
- Scully S, Evans ACO, Carter F, Duffy P, Lonergan P, Crowe MA (2015). Ultrasound monitoring of blood flow and echotexture of the corpus luteum and uterus during early pregnancy of beef heifers. *Theriogenology* 83: 449-458. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.10.009>.

- Senger PL. 2005. Pathways to pregnancy and parturition. Segunda edición. Current conceptions inc. Washington.
- Sepúlveda, N., Rodero, E. (2003). Comportamiento sexual durante el estro en vacas lecheras. *Interciencia*, 28(9), 500-503.
- Sharawy, H. A., Hegab, A. O., Risha, E. F., El-Adl, M., Soliman, W. T., Gohar, M. A., ... & Elmetwally, M. A. (2022). The vaginal and uterine blood flow changes during the ovsynch program and its impact on the pregnancy rates in Holstein dairy cows. *BMC Veterinary Research*, 18(1), 350.
- SIAP. (2022). Panorama Agroalimentario 2022. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, (2022), p.218,
- Siqueira, L., Areas, V., Ghetti, A., Fonseca, J., Palhao, M., Fernandes, C., Viana, J. (2013). Color Doppler flow imaging for the early detection of nonpregnant cattle at 20 days after timed artificial insemination. *J Dairy Sci*, 96:6461-6472.
- Ungerfeld, R. (2020). Reproducción de los animales domésticos. Grupo Asís Biomedica SL.
- Uribe-Velásquez, L. F., Osorio, J. H., Correa-Orozco, A. (2011). El cuerpo lúteo: Una visión inmunológica. *Biosalud*, 10(2), 87-100.
- Vásquez Cano, J. F., Olivera, M. (2010). Señalización celular en el folículo antral bovino. *Orinoquia*, 14(2), 178-187.
- Vecchio, D.; Neglia, G.; Gasparrini, B.; Russo, M.; Pacelli, C.; Prandi, A.; D'Occhio, M.J.; Campanile, G. Corpus luteum development and function and relationship to pregnancy during the breeding season in the Mediterranean bualo. *Theriogenology* 2012, 77, 1811–1815. [CrossRef]



- Vejarano, A., Hernández, A. (2021). Grado de desarrollo del folículo preovulatorio y su relación con el tamaño del cuerpo lúteo y la producción de progesterona en las razas Romosinuano (RS) y Brahman (Br). *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 68(1), 52-65.
- Villaseñor, C. P., Palacios, M. M., González, A. B. (2012). Principios físicos básicos del ultrasonido. *Investig. En Discapac*, 1, 25-34.
- Wagner, D. R., Teramoto, M., Judd, T., Gordon, J., McPherson, C., & Robison, A. (2020). Comparison of A-mode and B-mode ultrasound for measurement of subcutaneous fat. *Ultrasound in medicine & biology*, 46(4), 944-951.
- Wagner, J. J., Lusby, K. S., Oltjen, J. W., Rakestraw, J., Wettemann, R. P., & Walters, L. E. (1988). Carcass composition in mature Hereford cows: Estimation and effect on daily metabolizable energy requirement during winter. *Journal of animal science*, 66(3), 603-612.
- Wiltbank, M. C., Meidan, R., Ochoa, J., Baez, G. M., Giordano, J. O., Ferreira, J. C. P., & Sartori, R. (2018). Maintenance or regression of the corpus luteum during multiple decisive periods of bovine pregnancy. *Animal Reproduction (AR)*, 13(3), 217-233.
- Yáñez, U., González, J. J. B., Herradón, P. J. G., Martínez, A. I. P., Arias, L. A. Q. (2022). Ecografía Doppler y su aplicación en reproducción bovina: revisión. ITEA, información técnica económica agraria: revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA), 118(1), 82-100.