

# Relaciones entre la expresión de celo, tamaño del folículo y ovulación en vacas de leche en pastoreo

## Relations between estrus expression, follicle size and time of ovulation in grazing dairy cows

Andringa MFA<sup>a</sup>, Cavestany D<sup>b</sup>,  
van Eerdenburg FJCM<sup>a</sup>

Recibido: 05/02/2013  
Aprobado: 22/02/2013

### RESUMEN

Para maximizar el porcentaje de preñez en vacas de leche es importante hacer coincidir el momento de la inseminación con el momento de la ovulación; éste puede ser predicho por la ocurrencia del celo (aceptación de la monta). Actualmente en sistemas lecheros intensivos menos de la mitad de las vacas muestran síntomas de celo en concordancia con la ovulación y más aún el intervalo entre el celo y la ovulación es muy variable. Para poder predecir el momento de la ovulación de una vaca más precisamente, este estudio examina las relaciones entre el intervalo del inicio del celo a la ovulación con la intensidad del comportamiento estral y el diámetro del folículo dominante. Se registraron varios signos de comportamiento de celo en 44 vacas Holando durante tres períodos de observación diarios de 3

### SUMMARY

To maximize pregnancy rates in dairy cattle it is important to synchronize the moment of ovulation with insemination time and the latter can be predicted by the occurrence of standing heat. However, less than half of the cows show standing heat at estrus. Furthermore, the interval between standing heat and ovulation varies widely. To be able to predict the moment of ovulation of an individual cow more precisely, this study examines the relations between the interval from estrus to ovulation with the intensity of estrous behavior and diameter of the dominant follicle. The various signs of estrous behavior of 44 cows were recorded during three daily observation periods of 30 minutes each. From the moment a cow was considered to be in estrus, transrectal ultrasonography was carried out twice

<sup>a</sup> Department of Farm Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Utrecht, Yalelaan 7, 3584 CL Utrecht, the Netherlands

<sup>b</sup> Departamento de Reproducción, Facultad de Veterinaria, Lasplacas 1620, 11700 Montevideo, Uruguay

\*Autor para correspondencia: daniel.cavestany@gmail.com

horas cada uno. Desde que se identificó el primer comportamiento de celo se realizó ultrasonografía ovárica dos veces por día para medir el diámetro del folículo dominante y determinar el momento de ovulación. Se observaron correlaciones negativas entre el intervalo celo a ovulación y: escore de celo ( $r = -0,43$ ;  $P = 0,004$ ) y el diámetro folicular ( $r = -0,32$ ;  $P = 0,036$ ) y una correlación positiva entre escore de celo y diámetro folicular ( $r = 0,53$ ;  $P < 0,001$ ). Esto implica que vacas con comportamiento de celo más intenso tienen mayores folículos dominantes y están más próximas a la ovulación. Usando los parámetros mencionados es posible predecir más precisamente el momento de ovulación.

daily to measure the diameter of the dominant follicle and to determine the moment of ovulation. Negative correlations were observed between the estrus score and the interval estrus to ovulation ( $r = -0.43$ ;  $P = 0.004$ ), the follicle diameter and the interval estrus to ovulation ( $r = -0.32$ ;  $P = 0.036$ ), and a positive correlation between the estrus score and the follicle diameter ( $r = 0.53$ ;  $P < 0.001$ ). These correlations imply that cows with a more intense estrous behavior have larger dominant follicles and are closer to ovulation. On the basis of these results it is possible to give a reliable prediction on the moment of ovulation using the estrous behavior score or the diameter of the dominant follicle.

### PALABRAS CLAVE:

Comportamiento de celo, diámetro folicular, ovulación, reproducción, vacas de leche

### KEYWORDS:

Estrous behavior, follicle diameter, time of ovulation, reproduction, dairy cattle

## INTRODUCCIÓN

A menos que se utilice un protocolo de inseminación a tiempo fijo (IATF), una adecuada detección de celos es esencial para inseminar las vacas en el momento oportuno. La detección de celo, por lo tanto, es de gran importancia para la fertilidad en explotaciones lecheras (Reimers y col., 1985). En promedio, la ovulación ocurre alrededor de 27 h después del inicio del celo (Cavestany y col., 2008; López y col., 2002;

Maatje y col., 1997; Nebel y col., 2000; Roelofs y col., 2004, 2005; Saumande y Humblot, 2005; Walker y col., 1996). Sin embargo, en la actualidad, menos del 50% de las vacas que ovulan muestran el reflejo de aceptación de la monta (Diskin y col., 2000; Dransfield y col., 1998; Lyimo y col., 2000; Roelofs y col., 2004, 2005; van Eerdenburg y col., 1996, 2002; van Vliet y van Eerdenburg, 1996). Para

poder detectar una mayor cantidad de vacas en celo, aun cuando no muestran aceptación de la monta, van Eerdenburg y col. (1996) desarrollaron una escala de puntuación para comportamiento estral que incluye una amplia variedad de señales de comportamiento.

Cuando una vaca se detecta en celo se insemina generalmente de acuerdo a la regla AM/PM; así, vacas observadas en celo en la mañana van ser inseminadas por la tarde y las vacas detectadas en celo en la tarde se inseminarán a la mañana siguiente (Roelofs y col., 2010). Este criterio supone que el intervalo entre el inicio del estro y la ovulación es aproximadamente de 30 h, como lo demuestra Roelofs y col. (2004, 2005). Sin embargo se encontró una gran dispersión, de 18,5 a 48,5 h en el mismo; por lo tanto dado que el momento ideal de inseminación es 12 a 24 h antes de la ovulación (Roelofs y col., 2006), no hay un intervalo fijo para la inseminación que sea apropiado para todas las vacas. Existe una relación entre la intensidad de la conducta estral y el momento de la ovulación (van Eerdenburg y col., 2002): las vacas que muestran una alta intensidad de signos de comportamiento estral tienen un intervalo más corto entre el inicio del estro y la ovulación. Esto podría explicar por qué Dransfield y col. (1998) encontraron menores tasas de preñez en vacas que muestran un bajo número de signos de estro; estas vacas podrían haber ovulado después del tiempo de supervivencia del semen en el

tracto genital. Si fuera posible determinar un valor predictivo confiable del momento de la ovulación a partir del comportamiento estral de una vaca individual, el momento de la inseminación puede hacerse más específico y esto debería mejorar las tasas de preñez a la IA. El objetivo del presente trabajo fue estudiar las relaciones entre la expresión de celo, utilizando la escala de puntuación para el comportamiento estral de van Eerdenburg y col. (1996) y el tamaño del folículo y ovulación. Dado que la mayoría de los estudios se han realizado en vacas estabuladas, en el presente trabajo se registró el comportamiento estral de un rodeo de vacas de leche en pastoreo, comparando además el efecto del número de lactancia.

---

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el tambo experimental del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), La Estanzuela, en Colonia, Uruguay. Se trabajó con un rodeo de 285 vacas Holando, dividido en tres lotes de 88, 95 y 102 y vacas cada uno. La producción de leche promedio era 5.500 L/vaca/lactancia y la paridad osciló entre 1 y 7. Las vacas se mantenían en pasturas durante todo el día y la alimentación consistía en una mezcla de pradera (50%), ensilado o heno de maíz (30%) y concentrado comercial (20%), este último era administrado la

mitad en la sala de ordeño y mitad mezclada con el ensilaje, que fue siempre en la pastura a las 10:00 h. El ordeño se realizaba dos veces al día a las 4:00 y 16:00 h. Las vacas estaban bajo un sistema reproductivo estacional, desde finales de mayo hasta finales de octubre. El estro se determinó con el sistema de puntuación previamente validado por van Eerdenburg y col. (1996) (cuadro I); el comportamiento estral fue registrado tres veces al día durante períodos de 30 minutos a las 7:00, 13:00 y 19:00 h; el período de observación fue de 24 días. Todos los períodos de observación se llevaron a cabo por la misma persona. Las vacas que superaron los 50 puntos para síntomas de celo dentro de tres períodos de observación consecutivos (24 h), se consideraban en estro (Van Eerdenburg y col., 1996). El inicio del estro fue definido como el período de observación en la que se detectó el primer signo de estro.

Desde el momento en que se consideró una vaca en celo se realizó ecografía transrectal (Aloka SSO-500 y transductor lineal de 5 MHz) dos veces al día a las 9:00 y 17:00 h para la detección y medición de un folículo preovulatorio y la determinación de la ovulación. El diámetro del folículo preovulatorio se determinó sumando los diámetros horizontal y vertical y dividiéndolos entre dos (van Eerdenburg y col., 2002). Un folículo se consideró el dominante si el diámetro era mayor a 10 mm y no había ningún otro folículo grande presente (Savio y col., 1990). El tiempo entre el inicio del celo y la ovulación se calculó para cada vaca en horas. El momento de la ovulación se determinó por la desaparición del folículo dominante menos 4 h cuando coincidió con la ecografía de las 17:00 o menos 8 h cuando coincidió con la ecografía de las 9:00. Las vacas fueron inseminadas 12 h después del inicio del

**Cuadro I.** Escala de puntos para el comportamiento de celo

Signo de celo	Puntos
Descarga mucosa vaginal	3
Flehmen	3
Inquietud	4
Monta moviéndose	10
Olfateo de la vagina a otra vaca	10
Apoyo de la quijada en otra vaca	15
Monta (o intento) a otra vaca	35
Monta lateral o por la cabeza a otra vaca	45
Acepta la monta	100

Adaptado de (van Eerdenburg y col., 1996)

estro. Se analizaron las relaciones entre el escore de celo, intervalo entre el estro y la ovulación, diámetro del folículo y la paridad con SPSS (SPSS 16.0.2 2008), mediante correlación de Pearson.

## RESULTADOS

### Escore de estro y tamaño del folículo

Durante el período de observaciones, 95 de las 285 vacas mostraron signos de comportamiento estral; de éstas, 46 registraron más de 50 puntos en un

período de 24 h y se consideraron en estro. El escore de celo de estas vacas fue  $287,8 \pm 230,1$  (promedio  $\pm$  desvío estándar). En 44/46 de estas vacas se detectó la ovulación. El diámetro máximo del folículo preovulatorio de las vacas en estro ( $n = 46$ ) fue de  $16,2 \pm 1,7$  mm. La relación entre la puntuación de estro y el tamaño del folículo se muestra en la figura 1. Se encontró una correlación positiva de 0,533 ( $P < 0,001$ ) entre la puntuación de estro y el tamaño del folículo.

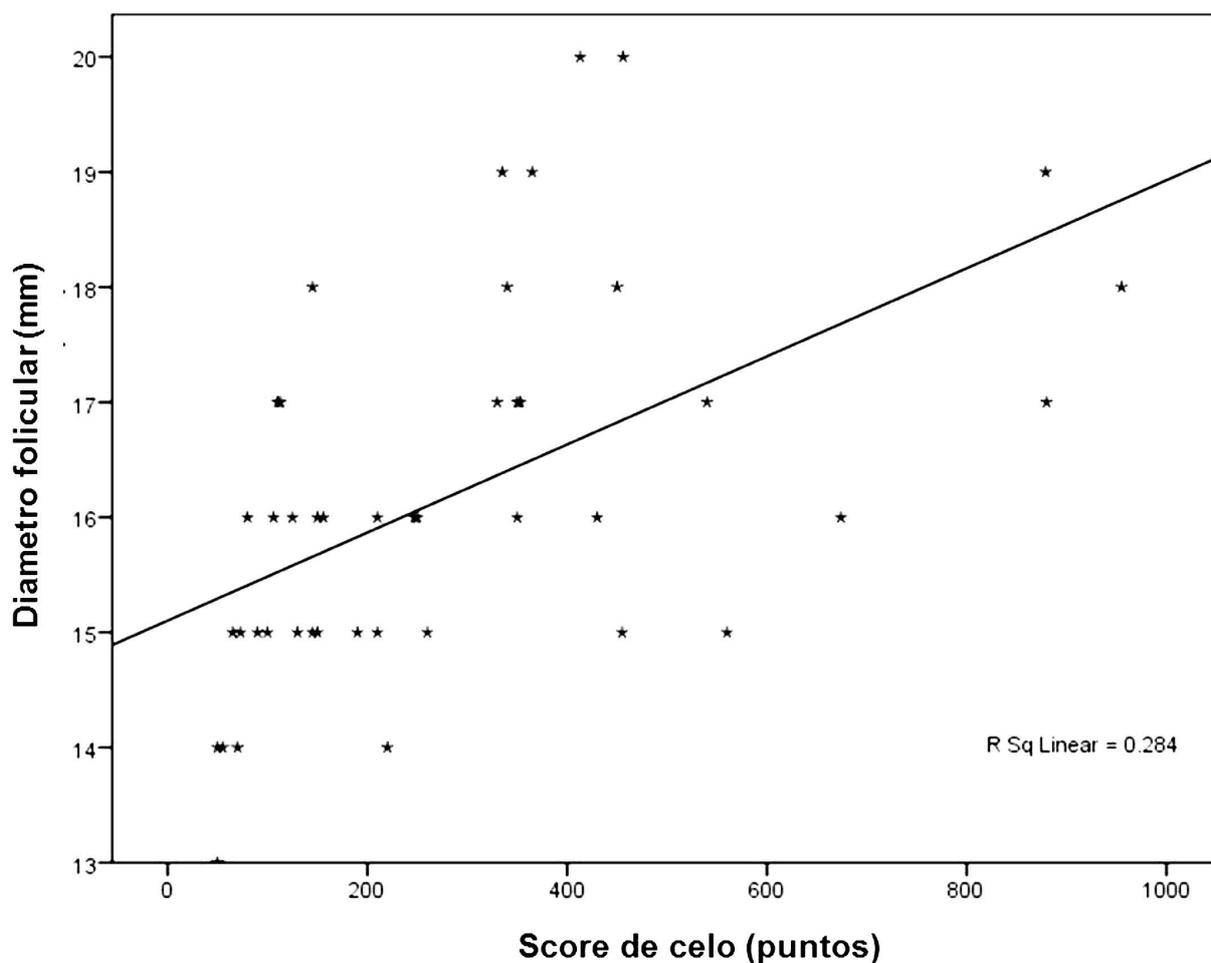


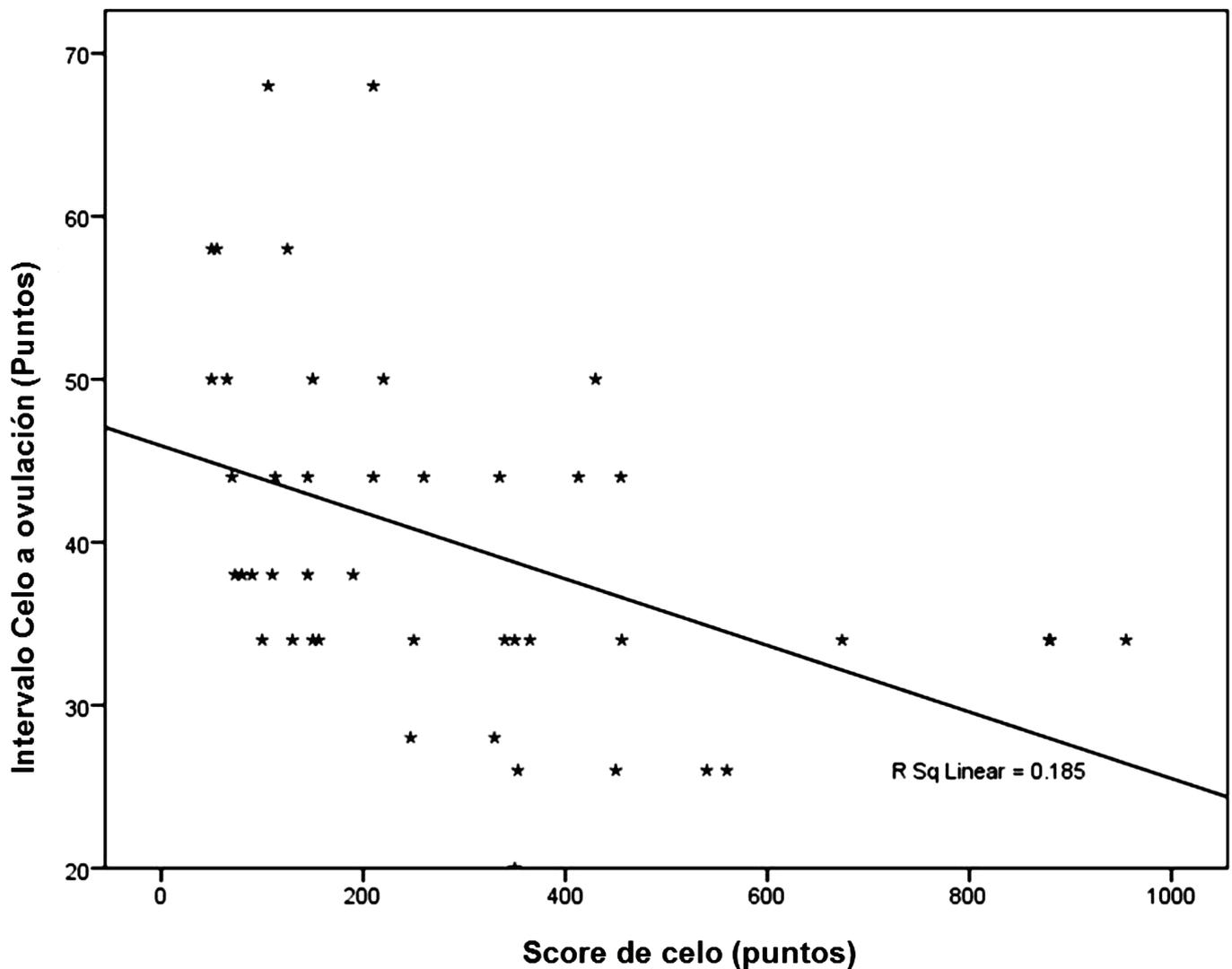
Figura 1. Relación entre escore de celo y el tamaño del folículo preovulatorio en mm ( $r = 0,533$ ;  $P < 0,001$ ).

## Escore de celo e intervalo estro a ovulación

El intervalo medio de las vacas que habían ovulado ( $n = 44$ ) fue de  $40,1 \pm 10,9$  h, con un rango de 20 a 68 h. Se registró una correlación negativa de  $-0,430$  ( $P = 0,004$ ) entre el escore de celo y el intervalo estro a ovulación (figura 2).

## Tamaño del folículo e intervalo celo a ovulación

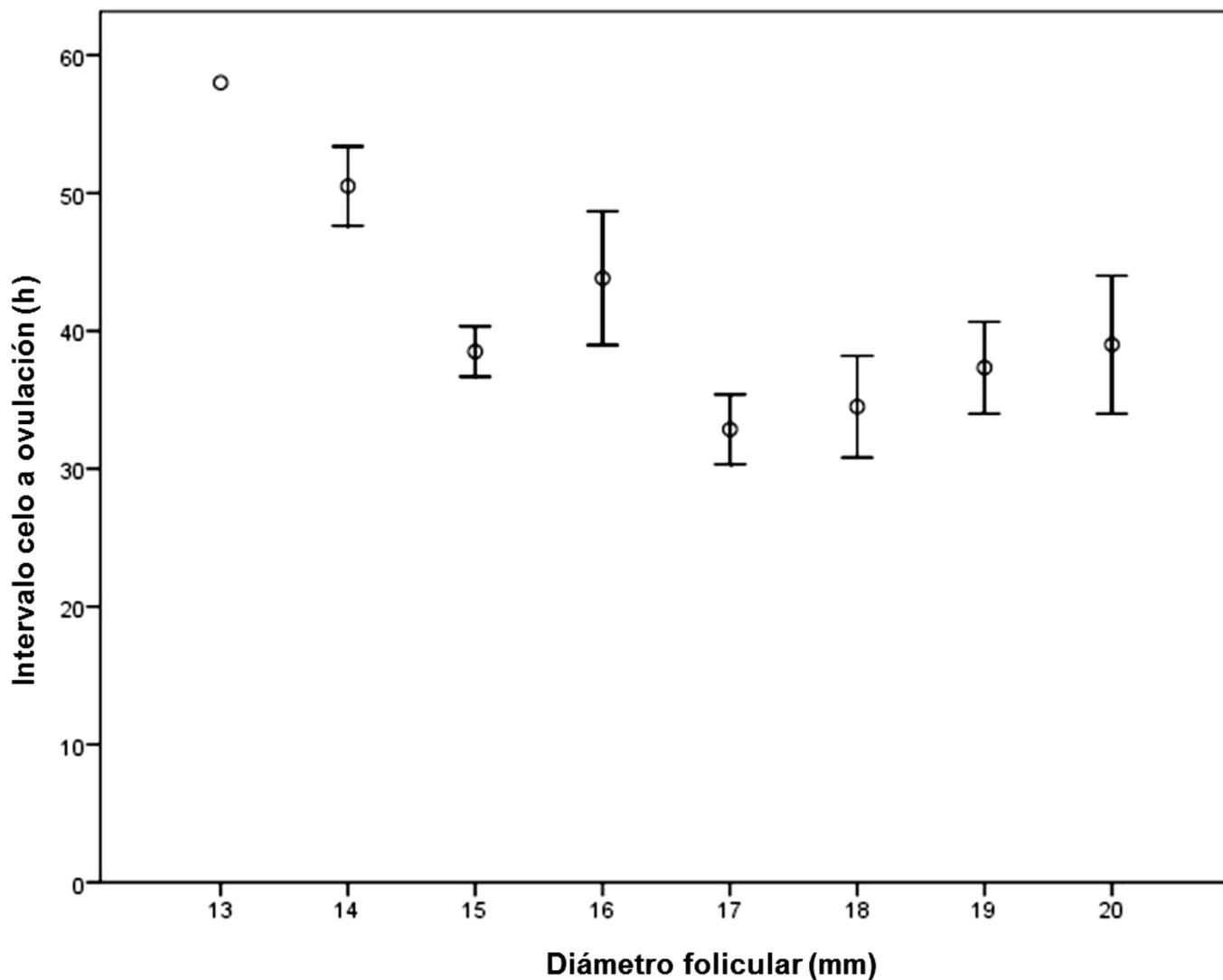
Se encontró una correlación negativa de  $-0,318$  ( $P = 0,036$ ) entre el diámetro del folículo preovulatorio y el intervalo entre el inicio del celo y la ovulación (Figura 3).



**Figura 2.** Relación entre escore de celo y el intervalo del celo a la ovulación en horas ( $r = -0,430$ ;  $P = 0,004$ ).

## Paridad

No se observó influencia de la paridad de las vacas en el comportamiento estral, folículo diámetro o intervalo de estro-ovulación.



**Figura 3.** Relación entre el tamaño del folículo preovulatorio y el intervalo celo a ovulación en horas ( $\pm$  SEM) ( $r = -0,318$ ;  $P = 0,036$ ).

## DISCUSIÓN

El presente estudio muestra una relación entre el escore de celo y el intervalo entre el comienzo del estro y la ovulación lo que se corresponde con hallazgos anteriores (van Eerdenburg y col., 2002). En un análisis retrospectivo, tomando el tiempo de inseminación como un momento fijo (12 h), después de la detección del celo se encontró que las vacas que ovularon en un intervalo menor a 24 h después de la inseminación tuvieron un escore de celo casi tres veces mayor que vacas que ovularon 24 h después de la inseminación ( $P = 0,045$ ). Esta relación significa que es posible predecir con mayor precisión el momento de la ovulación de una vaca midiendo el comportamiento estral en forma más precisa, utilizando la escala propuesta.

Los estudios sobre comportamiento de celo generalmente utilizan la primer monta aceptada como el inicio del estro y reportan una gran variedad en el intervalo entre el comienzo de éste y la ovulación, con valores que van desde 15,5 a 61 h (Cavestany y col., 2008; Saumande y Humblot, 2005; Walker y col., 1996), en concordancia con el presente trabajo (20 a 68 h), variación también reportada en estudios de Roelofs y col., (2004, 2005). Debido a que menos del 50% de las vacas que ovulan muestran síntomas de celo (van Eerdenburg y col., 2002) este parámetro es de poca utilidad, por lo que para planificar el momento de la inseminación es necesario conocer el momento

de la ovulación, porque cuando la ovulación tiene lugar dentro del tiempo de supervivencia del semen, las tasas de preñez son mucho más altas (Dransfield y col., 1998; Maatje y col., 1997; Nebel y col., 2000). Por lo tanto es posible lograr una predicción más exacta del momento de la ovulación al observar celo utilizando un escore que incluye otros signos de comportamiento, lo que además facilita realizar AI en el momento óptimo.

Varios factores deben tenerse en cuenta cuando la inseminación se basa en la predicción de la ovulación en base a la puntuación de estro. Por ejemplo la cantidad de vacas que entran simultáneamente en celo influye en la intensidad de la expresión del mismo (Cutullic y col., 2009; Diskin y col., 2000; Esslemont y col., 1985; Hurnik y col., 1975; Helmer y col., 1985; Roelofs y col., 2005, 2010; van Vliet y van Eerdenburg, 1996). El tipo de producción (estabulación o en pastoreo) (Britt y col., 1986; Cutullic y col., 2009; Kiddy, 1977; Pennington y col., 1986; Roelofs y col., 2010; Walker y col., 1996), así como el clima (Gwasdauskas y col., 1983; Rodtian y col., 1996; Wolfenson y col., 1988) también afectan el comportamiento estral. El escore de cada vaca individual, por lo tanto, se debe validar a un puntaje bajo condiciones estándar para poder hacer una estimación confiable del tiempo óptimo de inseminación, aplicable en cada situación.

En el presente estudio se encontró una relación entre

la puntuación de estro y el diámetro del folículo preovulatorio; esta relación implica que las vacas con folículos preovulatorios mayores muestran comportamiento estral más intenso; van Eerdenburg y col. (2002) reportaron que vacas con folículos más grandes están más cerca de la ovulación. La ovulación es inducida por el aumento de la hormona luteinizante (LH) que se activa por un pico de GnRH y, según van Eerdenburg (2008), la GnRH es el principal factor regulador de la conducta estral. Esto podría ser la razón por qué vacas con folículos más grandes tienen comportamiento estral más intenso. Los hallazgos de Lyimo y col. (2000) que las vacas con folículos pequeños tienen una menor expresión de la conducta estral apoyan este resultado.

En el presente estudio no se encontró influencia de paridad en el comportamiento estral, aunque trabajos anteriores muestran resultados contradictorios. Cavestany y col. (2008), Roelofs y col. (2005) y van Vliet y van Eerdenburg (1996) reportaron mayor comportamiento estral en vacas primíparas. Sin embargo, en otro estudio (van Eerdenburg y col., 2002) no observaron diferencias entre vacas primíparas y multíparas.

Para lograr la concepción, la inseminación debe realizarse en un período determinado en relación con la ovulación. Cuando el momento de la inseminación es a principios o a finales, la fertilización y el desarrollo embrionario son afectados negativamente

(Dalton y col., 2001; Hawk, 1987; Hunter y col., 1997; Roelofs y col., 2006). La vida útil de semen congelado en el oviducto de la vaca es de 12 a 24 h y la viabilidad del óvulo es de 6 a 12 h (Gordon, 2003). Las mayores tasas de concepción fueron encontradas cuando la inseminación se realizó entre 36 y 4 h antes de la ovulación (Roelofs y col., 2006). Estos autores también reportaron que la calidad de los embriones es mejor cuando la inseminación se realiza entre 24 y 12 h antes de la ovulación. Cuando se utiliza la regla AM/PM para la inseminación, el momento de la ésta es de aproximadamente 12 h después de la detección del estro. La primera detección de conducta de celo en las vacas en este estudio osciló entre 68 y 20 h antes de la ovulación. Cuando estas vacas fueron inseminadas en base a la regla AM/PM, el resultado es que podrían ser inseminadas entre 56 y 8 h antes de la ovulación. Para las 44 vacas en este estudio, 25 vacas (56,8%) habrían sido inseminadas fuera el intervalo óptimo 24 a 12 h.

Se concluye que vacas con comportamiento de celo más intenso tienen mayores folículos dominantes y están más próximas a la ovulación. El método y la frecuencia de detección de estro utilizados en el presente estudio ofrece una predicción exacta del momento de la ovulación. Por el contrario, cuando se utiliza la regla AM/PM, parte de las vacas serían inseminadas muy temprano o tarde, debido a la

gran variación en el intervalo entre el inicio del celo y la ovulación. Registrando los signos conductuales de una vaca individual, el intervalo a la ovulación puede ser estimado, por lo que puede determinarse el momento más adecuado para la inseminación. Este método puede estimar el momento de la inseminación adecuado para cada vaca individual que muestre algún comportamiento estral.

## REFERENCIAS

1. Britt JH, Scott RG, Armstrong JD, Whitacre MD. (1986). Determinants of estrous behaviour in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 69:2195-2202.
2. Cavestany D, Fernandez M, Perez M, Tort G, Sanchez A, Sienna R. (2008). Oestrus behaviour in heifers and lactating dairy cows under a pasture-based production system. *Vet Quart* 30(Suppl. 1):10-36.
3. Cutullic E, Delaby L, Causeur D, Michel G, Disenhaus C. (2009). Hierarchy of factors affecting behavioural signs used for oestrus detection of Holstein and Normande dairy cows in a seasonal calving system. *Anim Reprod Sci* 113:22-37.
4. Dalton JC, Nadir S, Bame JH, Noftsinger M, Nebel RL, Saacke RG. (2001). Effect of time of insemination on number of accessory sperm, fertilization rate, and embryo quality in nonlactating dairy cattle. *J Dairy Sci* 84:2413-2418.
5. Diskin MG, Sreenan JM. (2000). Expression and detection of oestrus in cattle. *J Reprod Nut Dev* 40:481-491.
6. Dransfield MBG, Nebel RL, Pearson RE, Warnick LD. (1998). Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *J Dairy Sci* 81:1874-1882.
7. Esslemont RJ, Baily JH, Cooper MJ. (1985). Fertility management. In: *Fertility Management in Dairy Cattle*. Ed. R J Esslemont. Collins, London, UK. p 70-93.
8. Gordon I. (2003). Laboratory production of cattle embryos. In: *Biotechnology in Agriculture Series, No. 27*, CABI Publishing. p 178-181.
9. Gwazdauskas FC, Lineweaver JA, McGilliard ML. (1983). Environmental and management factors affecting estrous activity in dairy cattle. *J Dairy Sci* 66:1510-1514.
10. Hawk HW. (1987). Transport and fate of spermatozoa after insemination of cattle. *J Dairy Sci* 70:1487-1503.
11. Helmer SD, Britt JH. (1985). Mounting behavior as affected by the stage of estrous cycle in Holstein heifers. *J Dairy Sci* 68:1290-1296.
12. Hunter RHF, Greve T. (1997). Could artificial insemination of cattle be more fruitful? Penalties associated with ageing eggs. *Reprod Dom Anim* 32:137-141.
13. Hurnik JF, King GJ, Robertson HA. (1975). Estrous and related behavior in postpartum Holstein cows. *Appl Anim Ethol* 2:55-68.
14. Kiddy CA. (1977). Variation in physical

- activity as an indication of estrus in dairy cows. *J Dairy Sci* 60:235-243.
15. López H, Bunch TD, Shipka MP. (2002). Estrogen concentrations in milk at estrus and ovulation in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 72:37-46.
  16. Lyimo ZC, Nielen M, Ouweltjes W, Kruip TAM, van Eerdenburg FJCM. (2000). Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. *Theriogenology* 53:1783-1795.
  17. Maatje K, Loeffler HSH, Engel B. (1997). Predicting optimal time of insemination in cows that show visual signs of estrus by estimating onset of estrus with pedometers. *J Dairy Sci* 80:1098-1105.
  18. Nebel RL, Dransfield MG, Jobst SM, Bame JH. (2000). Automated electronic systems for the detection of oestrus and timing of AI in cattle. *Anim Reprod Sci* 60-61:713-723.
  19. Pennington JA, Albright JL, Callahan CJ. (1986). Relationships of sexual activities in estrous cows to different frequencies of observation and pedometer measurements. *J Dairy Sci* 69:2925-2934.
  20. Reimers TJ, Smith RD, Newman SK. (1985). Management factors affecting reproductive performance of dairy cows in the northeastern United States. *J Dairy Sci* 68:963-972.
  21. Rodtian P, King G, Subrod S, Pongpiachan P. (1996). Oestrous behaviour of Holstein cows during cooler and hotter tropical seasons. *Anim Reprod Sci* 45:47-58.
  22. Roelofs JB, Bouwman EG, Dieleman SJ, van Eerdenburg FJCM, Kaal-Lansbergen LMTE, Soede NM, Kemp B. (2004). Influence of repeated rectal ultrasound examinations on hormone profiles and behaviour around oestrus and ovulation in dairy cattle. *Theriogenology* 62:1337-1352.
  23. Roelofs JB, van Eerdenburg FJCM, Soede NM, Kemp B. (2005). Various behavioral signs of estrus and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. *Theriogenology* 63:1366-1377.
  24. Roelofs JB, Graat EAM, Mullaart E, Soede NM, Voskamp-Harkema W, Kemp B. (2006). Effects of insemination-ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. *Theriogenology* 66:2173-2181.
  25. Roelofs JB, López-Gatius F, Hunter RHF, van Eerdenburg FJCM, Hanzen Ch. (2010). When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology* 74:327-344.
  26. Savio JD, Boland MP, Roche JF. (1990). Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. *J Reprod Fertil* 88:581-591.
  27. Saumande J, Humblot P. (2005). The variability in the interval between estrus and ovulation in cattle and its determinants. *Anim Reprod Sci* 85:171-182.
  28. van Eerdenburg FJCM, Loeffler HSH, van Vliet JH. (1996). Detection of estrus in dairy cows: A new approach to an old problem. *Vet Quart* 18:52-54.
  29. van Eerdenburg FJCM, Karthaus D, Taverne MAM, Merics I, Szenci O. (2002). The relationship between estrus behavioral score

- and time of ovulation in dairy cattle. *J Dairy Sci* 85:1150–1156.
30. van Eerdenburg FJCM. (2008). Possible causes for the diminished expression of oestrous behaviour. *Vet Quart* 30(Suppl. 1):79-100.
31. van Vliet JH, van Eerdenburg FJCM. (1996). Sexual activities and estrus detection in lactating Holstein cows. *Appl Anim Behav Sci* 50:57–69.
32. Walker WL, Nebel RL, McGilliard ML. (1996). Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. *J Dairy Sci* 79:1555–1561.
33. Wolfenson D, Flamenbaum I, Berman A. (1988). Hyperthermia and body energy store effects on estrous behaviour, conception rate, and corpus luteum function in dairy cows. *J Dairy Sci* 71:3497-3504.