

## Dinámica folicular y cuantificación de estradiol durante el ciclo estral de vacas criollas de la raza Blanco Orejinegro

Follicular dynamics and estradiol quantification during the estrous cycle of creole cows of the Blanco Orejinegro breed

Héctor Javier Narváez Bedoya<sup>1</sup>, Andrea Viviana Silva Rojas<sup>2</sup>

### RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo caracterizar la dinámica folicular y cuantificar los niveles de estradiol durante un ciclo estral en vacas de la raza criolla Blanco Orejinegro. Se seleccionaron 10 vacas que se encontraban ciclando y fueron sometidas a un protocolo de sincronización del estro con la aplicación inicial de un dispositivo intravaginal progesterona (CIDR<sup>®</sup>) más 2 mg de benzoato de estradiol (día 0 - D0). En el día D8 se retiró el dispositivo y se aplicó 150 µg de cloprostenol (Ciclase DL<sup>®</sup>). En D9 se administró 1 mg de benzoato de estradiol. Luego de la ovulación se realizaron ecografías cada 24 horas, registrando la dinámica folicular y colectando sangre para la cuantificación del estradiol. La duración del ciclo estral fue de  $21.0 \pm 0.4$  días, los diámetros del foliculo ovulatorio fue de  $14.3 \pm 0.5$  mm y del mayor foliculo subordinado de  $6.0 \pm 0.5$  mm, la tasa de crecimiento del foliculo dominante durante las 96 horas previas a la ovulación fue de  $1.05 \pm 0.4$  mm/día. En conclusión, la dinámica folicular y hormonal de vacas criollas de la raza Blanco Orejinegro presentan patrones similares a los observados en razas *Bos taurus* y *Bos indicus*.

**Palabras clave:** bovinos, razas criollas, ciclo estral, dinámica folicular

Actas, Naturales y  
r, Bucaramanga,

Santander, Colombia

<sup>2</sup> Programa de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agropecuarias, Universidad de Santander, Bucaramanga, Colombia

<sup>3</sup> E-mail: h.narvaez@mail.udes.edu.co

Fuente de financiación: Universidad de Santander y Ganadería La Humareda

Recibido: 23 de mayo de 2019

Aceptado para publicación: 15 de abril de 2020

Publicado: 22 de junio de 2020

## ABSTRACT

The aim of this study was to characterize follicular dynamics and quantify oestradiol levels during an oestrous cycle in cows of the creole breed Blanco Orejinegro. Ten cows that were cycling were selected and underwent an oestrous synchronization protocol with the initial application of an intravaginal progesterone device (CIDR®) plus 2 mg of estradiol benzoate (day 0 - D0). On day D8 the device was removed and 150 µg of cloprostenol (Ciclast DL®) was injected. In D9 1 mg of oestradiol benzoate was administered. After ovulation, ultrasound scans were performed every 24 hours, recording follicular dynamics and collecting blood for oestradiol quantification. The oestrous cycle duration was  $21.0 \pm 0.4$  days, the diameter of the ovulatory follicle was  $14.3 \pm 0.5$  mm and of the major subordinate follicle was  $6.0 \pm 0.5$  mm, the growth rate of the dominant follicle during the 96 hours prior to ovulation was  $1.05 \pm 0.4$  mm/day. In conclusion, the follicular dynamics and oestradiol levels of creole cows of the Blanco Orejinegro breed present similar patterns to those observed in *Bos taurus* and *Bos indicus* breeds.

**Key words:** cattle, breed creole, estrous cycle, follicular dynamics

## INTRODUCCIÓN

El mundo viene enfrentando una serie de preocupaciones referentes al cambio climático, seguridad alimentaria y crecimiento poblacional, en donde se estima que para el año 2050 el número de habitantes alcance los 9700 millones. Esto implica que la producción de alimentos en los países en desarrollo necesita ser duplicada para garantizar la seguridad nutricional (FAO, 2009).

Colombia es considerado uno de los países con la más alta biodiversidad de recursos genéticos de vegetales y de animales, además de ser reconocido como el primer país latinoamericano con la mayor diversidad de animales domésticos criollos (Martínez, 2004). Las razas bovinas criollas son uno de los recursos zoogenéticos naturalizados de mayor importancia en el país, entre ellas: Blanco Orejinegro, Costeño con Cuernos, Romosinuano, Chino Santandereano, Hartón del Valle, Sanmartinero y Casanareño (Moreno *et al.*, 2001). Se considera que la población del ganado criollo colombiano ha disminuido en los últimos años en razón al ingreso

de razas mejoradas de origen europeo (*Bos taurus*) y asiáticas (*Bos indicus*) (Anzola, 2004). Se estima que el inventario de las diferentes razas criollas no supere los 24 000 cabezas (Martínez, 2004).

El ganado bovino, desde su introducción en la época de la conquista, fue sometido a un largo proceso de selección natural que le proporcionó características únicas de adaptación, tales como tolerancia al trópico cálido y húmedo, capacidad de mantenimiento en pasturas de baja calidad, tolerancia a enfermedades y parásitos; además de una mayor eficiencia reproductiva (Martínez, 1995). Esta eficiencia se refleja en parámetros como porcentaje de natalidad de 84%, reinicio de la actividad ovárica entre los días 70-80 posparto y 72.6% de eficiencia en detección de celos (Báez *et al.*, 2007), edad al primer parto de  $38.2 \pm 0.16$  meses e intervalo entre partos de  $433.6 \pm 3.2$  días (Ossa y Suárez, 2004). Estos parámetros son considerados superiores a los encontrados en la ganadería colombiana, en donde el porcentaje de natalidad se encuentra alrededor del 54%, el intervalo entre partos en 670 días y el intervalo parto-concepción en 400 días (Basurto, 2005).

Estas características reproductivas de los bovinos criollos les han permitido su permanencia a través del tiempo; sin embargo, en Colombia es muy poco lo que se conoce sobre la dinámica folicular y hormonal de estas razas, aunque se presume que, por su grado de adaptación a las condiciones del trópico, puede haber conllevado a cambios importantes en su desempeño reproductivo. Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar la dinámica folicular y la dinámica del estradiol durante el ciclo estral de un grupo de vacas criollas de la raza Blanco Orejinegro.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para la ejecución del actual trabajo de investigación se siguió el Estatuto Nacional de Protección de los Animales (Resolución 008430 de octubre 4 de 1993) y en el cumplimiento con los aspectos mencionados en su Art. 87.

Se seleccionaron 10 vacas multíparas de la raza Blanco Orejinegro (*Bos taurus* adaptado), no lactantes, con edades entre 50 a 100 meses, peso promedio de 400 kg y condición corporal entre 3.5 y 4.0 (escala: 1-5). Se confirmó mediante ecografía que los animales se encontraban ciclando. Las vacas fueron seleccionadas de un núcleo bovino de la raza en estudio, localizado en el departamento de Santander, Colombia. La finca presentaba una población cercana a 70 animales de entre toros, vacas y animales jóvenes, con plan sanitario estricto, libres de brucelosis y tuberculosis, vacunadas contra aftosa, leptospirosis, IBR y DVB. Durante el periodo experimental, los animales fueron alimentados bajo condiciones de pastoreo en pasto Solana (*Bothriochloa pertusa*), recibieron suplementación balanceada, suplementación mineral y agua *ad libitum*.

Toda la manipulación de los animales se hizo en bretes ganaderos, instalación que permite la contención de los animales de mane-

ra segura, restringiendo los movimientos por la sujeción en la región lateral del cuello y la línea de la fosa paralumbar. Los animales recibieron dos aplicaciones de PGF<sub>2α</sub> (150 µg cloprostenol - Ciclase DL<sup>®</sup>, Syntex), vía IM, con 12 días de intervalo. El protocolo de sincronización de la ovulación fue iniciado 12 días después de la última aplicación de PGF<sub>2α</sub>; así en el día 0 (D0) recibieron un dispositivo intravaginal de 1.9 g de progesterona (CIDR<sup>®</sup>, Pfizer) mas 2 mg de benzoato de estradiol (benzoato de estradiol Syntex<sup>®</sup>) vía IM. El dispositivo fue removido ocho días después (D8), cuando se aplicó 150 µg de cloprostenol (Ciclase DL<sup>®</sup>) IM. En el D9 se administró 1 mg de benzoato de estradiol IM, como inductor de la ovulación.

Las vacas fueron sometidas a exámenes ecográficos por vía transrectal para el estudio de la dinámica folicular. Se utilizó un ecógrafo DP 30 Vet (Mindray Vet, China), equipado con un transductor lineal con frecuencia de 7.5 MHz. Las ecografías fueron iniciadas en el momento de la inserción del implante de progesterona y repetidas a intervalos de 24 horas durante la permanencia del dispositivo y, posteriormente, cada 12 horas hasta la ovulación.

Para una adecuada visualización de los ovarios, las imágenes fueron capturadas utilizando el recurso «cineloop» realizando el registro y lectura del tamaño de la población folicular. El momento de la emergencia de la nueva onda de crecimiento folicular fue determinado por el surgimiento sincrónico de un grupo de folículos antrales >2 mm de diámetro. La tasa de crecimiento del folículo dominante (mm/día) fue calculada por la diferencia entre el diámetro mínimo (96 horas antes de la ovulación) y el diámetro máximo (24 horas antes de la ovulación), dividida por el periodo de crecimiento. El momento de la ovulación fue definida como la ausencia de visualización del folículo dominante, seguido por la formación del cuerpo hemorrágico y posteriormente cuerpo lúteo en la misma posición.

Posterior a la ovulación, se hicieron ecografías a intervalos de 24 horas, registrando la dinámica folicular durante el ciclo estral (D0 al D21). Se colectaron muestras de sangre (5 ml) de la vena coccígea a intervalos de 24 horas a partir de la ovulación y durante todo el ciclo estral para la cuantificación sérica de estradiol. Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 3000 G durante 15 minutos y los sueros resultantes fueron almacenados en criotubos y almacenados a -20 °C hasta la realización de los análisis. Las concentraciones séricas del estradiol fueron determinadas con ayuda de un kit comercial (Coat-A-Count; Siemens, Los Angeles, CA) utilizando la técnica de radioinmunoensayo en fase sólida validado para bovinos.

Los resultados son presentados como promedios y error estándar. Las variables diámetro del folículo dominante y subordinado, población folicular, duración del ciclo estral, tasa de crecimiento folicular y concentración sérica de estradiol fueron analizadas por análisis de variancia paramétrica.

## RESULTADOS

Ocho de las 10 vacas criollas Blanco Orejinegro ovularon después del retiro del dispositivo de progesterona. El diámetro del folículo en el momento de la divergencia (momento en el cual uno de los folículos reclutados presenta mayor tamaño) de la primera onda folicular fue de  $9.1 \pm 0.4$  mm para el folículo dominante (FD) y de  $7.5 \pm 0.2$  mm para el segundo folículo mayor, mientras que para la segunda onda folicular fue de  $7.0 \pm 0.2$  mm y  $6.7 \pm 0.3$  mm, respectivamente (Figura 1). El momento de la divergencia folicular fue evaluado mediante el acompañamiento ecográfico, y se presentó en el 4° día de la primera onda folicular y en el 13° día de la segunda onda folicular (Figura 1).

La población folicular se mantuvo estable durante todo el ciclo estral. La reducción del número de folículos observada al final del ciclo estral no fue significativamente diferente. La población folicular en el día 1 del ciclo fue  $29.6 \pm 0.5$  y en el último día  $22.5 \pm 0.6$  (Figura 2). El número de folículos pequeños (2-5 mm) fue significativamente diferente ( $p < 0.05$ ) durante todo el ciclo estral respecto a la población de folículos medios (5-9 mm) y de folículos grandes ( $>9$  mm) (Figura 3).

La duración del ciclo estral fue de  $21.0 \pm 0.4$  días, con  $2.4 \pm 0.2$  ondas foliculares por ciclo estral. Entre tanto, el diámetro del folículo ovulatorio y del mayor folículo subordinado fue de  $14.3 \pm 0.5$  y  $6.0 \pm 0.5$  mm, respectivamente. La tasa de crecimiento del folículo dominante durante las últimas 96 horas antes de la ovulación fue de  $1.05 \pm 0.4$  mm por día (Cuadro 1).

El perfil sérico del estradiol durante todo el ciclo estral está representado en la Figura 4. Se puede observar una tendencia a mantenerse estable durante todo el ciclo estral, y un aumento progresivo al final del ciclo, aspecto compatible con el mecanismo de la ovulación y manifestación del estro.

## DISCUSIÓN

Las vacas Blanco Orejinegro presentan entre 2 y 3 ondas foliculares por ciclo estral. Estudios previos describieron que animales *Bos taurus* presentan entre 2 y 4 ondas foliculares durante el ciclo estral, con predominancia dos ondas foliculares (Townson *et al.*, 2002), reportándose similar frecuencia en vacas *Bos indicus* de las razas Nelore (Mollo *et al.*, 2007), Brahman (Zeitoun *et al.*, 1996) y Gyr (Viana *et al.*, 2000).

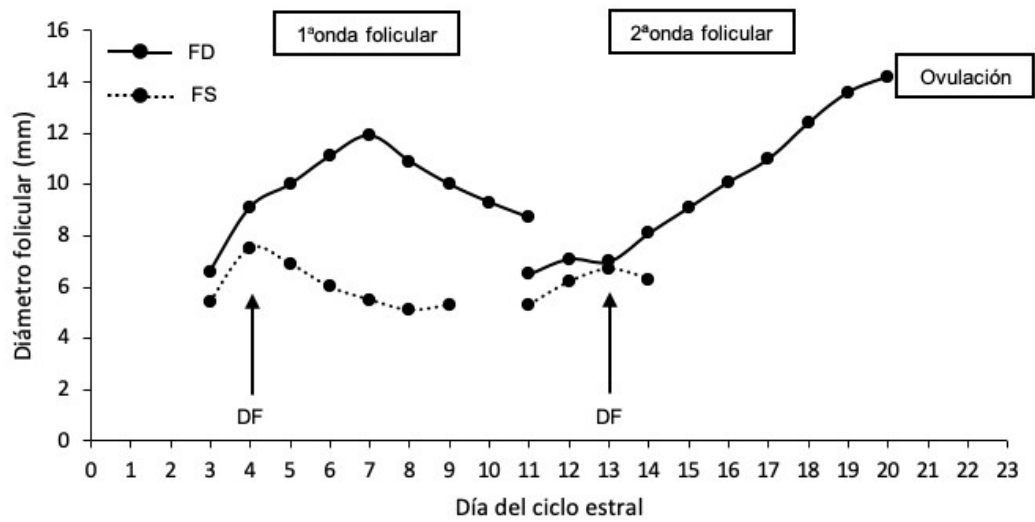


Figura 1. Dinámica folicular del ciclo estral subsecuente al protocolo de sincronización del estro y de la ovulación de ocho vacas Blanco Orejinegro (*Bos taurus* adaptado). FD: folículo dominante, FS: folículo subordinado y DF: divergencia folicular

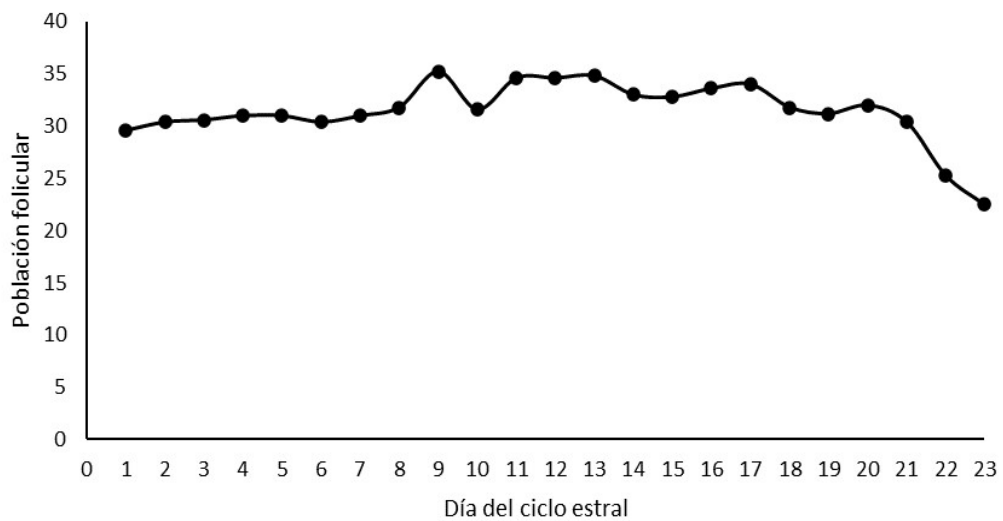


Figura 2. Población folicular total durante el ciclo estral subsecuente al protocolo de sincronización del estro y de la ovulación de ocho vacas de la raza criolla Blanco Orejinegro (*Bos taurus* adaptado)

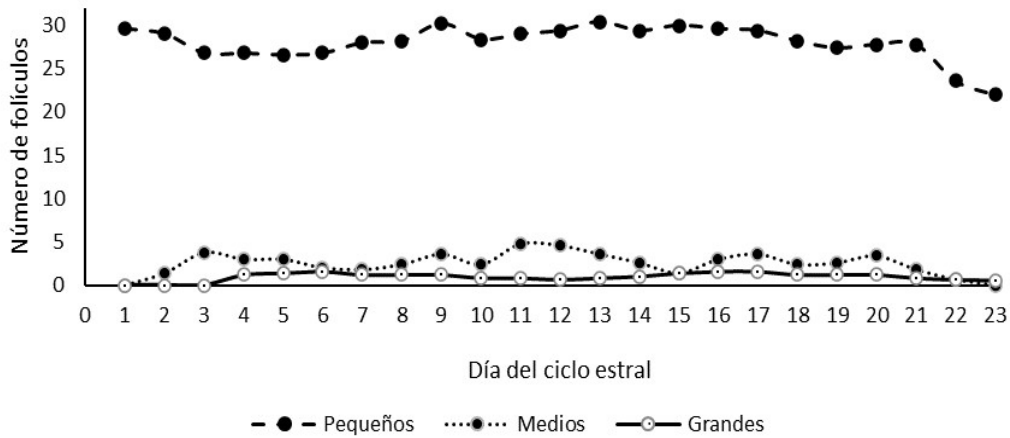


Figura 3. Población de folículos pequeños (2-5 mm), medianos (5-9 mm) y grandes (>9 mm) durante el ciclo estral subsecuente al protocolo de sincronización del estro y de la ovulación de ocho vacas de la raza criolla Blanco Orejinegro (*Bos taurus* adaptado)

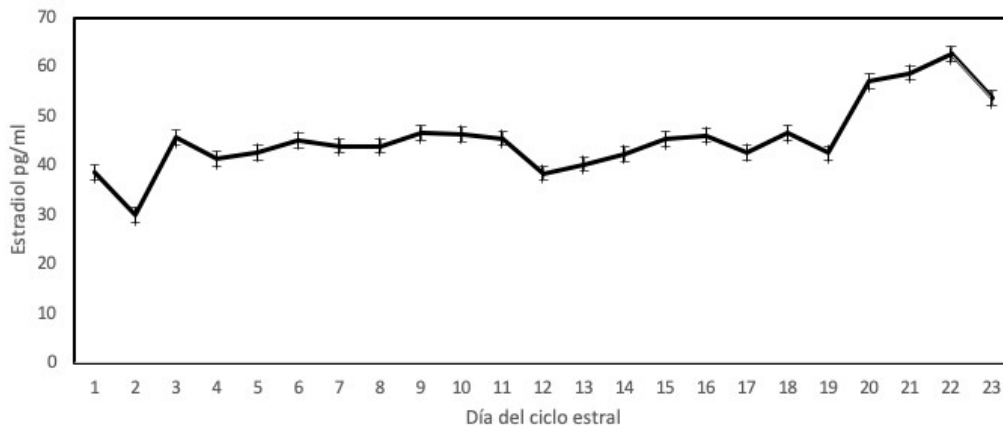


Figura 4. Concentración sérica de estradiol durante el ciclo estral subsecuente al protocolo de sincronización del estro y de la ovulación de ocho vacas de la raza criolla Blanco Orejinegro (*Bos taurus* adaptado)

Los folículos dominante y subordinado presentan un desarrollo inicial común y solo después de la divergencia folicular se presenta una disminución en la tasa de crecimiento del folículo subordinado; mecanismo que ha sido previamente descrito por Ginther *et al.* (2001) en vacas Holstein y por Sartorelli

(2003) en novillas Nelore. El diámetro del folículo dominante en el momento de la divergencia folicular fue de  $7.0 \pm 0.2$  mm, resultado similar a lo observado por Castilho (2003) quién encontró un diámetro de  $7.2 \pm 0.4$  mm. No obstante, los resultados del actual estudio presentan discrepancias con los

Cuadro 1. Duración del ciclo estral, número de ondas foliculares, diámetro del folículo dominante y subordinado y tasa de crecimiento del folículo dominante en 8 vacas de la raza criolla Blanco Orejinegro (*Bos taurus* adaptado), observación presentada subsecuentemente al protocolo de sincronización del estro y de la ovulación.

Variable	Promedio $\pm$ error estándar
Duración del ciclo estral (días)	21.0 $\pm$ 0.3
Número de ondas foliculares	2.4 $\pm$ 0.3
Población folicular (n)	30.4 $\pm$ 0.6
Diámetro del folículo ovulatorio (mm)	14.3 $\pm$ 0.5
Diámetro del mayor folículo subordinado (mm)	6.0 $\pm$ 0.5
Tasa de crecimiento del folículo dominante (mm/día)	1.05 $\pm$ 0.4

estudios realizados por Sartorelli *et al.* (2005), Castilho *et al.* (.007) y Gimenes *et al.* (2008) con diámetros de 6,1, 5.4 y 6.2, respectivamente.

Según Ginther *et al.* (1996), el momento de la divergencia folicular en vacas Holstein ocurre 2.8 días después de la emergencia de la onda, con un diámetro de 8.5 mm para el folículo dominante y 7.2 mm para el segundo folículo mayor. En novillas de la raza Nelore la divergencia ocurre 2.5-2.7 días después (Castilho *et al.*, 2007), con un tamaño folicular de 5.4 (Sartorelli *et al.*, 2005) a 5.8 (Gimenes, 2006). Estas características son consideradas inherentes a cada raza.

La literatura científica indica una mayor cantidad de folículos en vacas *Bos taurus* (Alvarez *et al.*, 2000; Carvalho *et al.*, 2008; Gimenes, 2010; Pontes *et al.*, 2010; Sales, 2011; Narváez, 2013). No obstante, las diferencias entre *Bos indicus* y *Bos taurus* están relacionadas a mayores concentraciones circulantes del factor similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) e insulina (Alvarez *et al.*, 2000). Estas sustancias son responsables por un número mayor de folículos y se encuentran

aumentadas durante la fase estrogénica, momento en el cual ocurre el reclutamiento de los folículos y la emergencia de la nueva onda folicular. Estudios más recientes indican que la hormona antimülleriana puede ser un posible marcador del tamaño de la reserva ovárica y del número de folículos en crecimiento (Batista *et al.*, 2014; Ribeiro *et al.*, 2014).

Otro factor de gran importancia durante el ciclo estral es atribuido a la tasa de crecimiento del folículo dominante. En el presente estudio, las vacas Blanco Orejinegro presentaron tasas similares de crecimiento a las reportadas en razas taurinas. Por ejemplo Utt *et al.* (2003) reportaron 1.2 mm/día para vacas Angus, mientras que Sartorelli (2003) menciona 1.5 mm/día en novillas Nelore. No obstante, en un estudio posterior en novillas Nelore se reportan tasas de crecimiento del folículo dominante de 0.60  $\pm$  0.05 (Gimenes *et al.*, 2008), diferencias que podrían ser atribuidas al grupo genético, manejo y condiciones climáticas de los estudios.

Referente a la concentración sérica de la hormona estradiol hay bastante variación en los valores descritos en la literatura, pro-

ducto de las diferencias entre razas, metodologías y fases del ciclo estral. Los resultados del presente estudio muestran un aumento en las concentraciones hacia los últimos días del ciclo estral, comportamiento esperado y relacionado con el inicio del estro (Alvarez *et al.*, 2000).

Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten concluir que la dinámica folicular y hormonal de vacas criollas de la raza Blanco Orejinegro presentan patrones similares a los observados en razas *Bos taurus* y *Bos indicus*.

#### LITERATURA CITADA

1. **Álvarez P, Spicer LJ, Chase CC, Payton ME, Hamilton TD, Stewart RE, Hammond AC, et al. 2000.** Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. *J Anim Sci* 78: 1291-1302. doi: 10.2527/2000.7851291x
2. **Anzola HJ. 2004.** Conservación y mejoramiento de las razas criollas y colombianas de animales domésticos para el desarrollo rural sostenible. En: II Foro Nacional de Razas Bovinas Criollas y Colombianas. Palmira, Colombia.
3. **Batista EO, Macedo GG, Sala RV, Ortolan MD, Sá Filho MF, Del Valle TA, Jesus EF, et al. 2014.** Plasma antiMullerian hormone as predictor of ovarian antral follicular population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) heifers. *Reprod Domest Anim* 49: 448-452. doi: 10.1111/rda.12304
4. **Báez GM, Grajales HA, Pérez JE. 2007.** Caracterización del ciclo estral mediante perfiles de esteroides (proges-terona, 17  $\beta$ -estradiol) en la raza Costeño con cuernos (*Bos taurus*) en el trópico colombiano. *Livestock Res Rural Develop* 19(9). [Internet]. Disponible en: <http://www.lrrd.org/lrrd19/9/baez19132.htm>
5. **Basurto HB. 2005.** El anestro posparto en la ganadería bovina del trópico. En: I Congreso Internacional de Reproducción Bovina. Bogotá, Colombia. Intervet.
6. **Carvalho JB, Carvalho NA, Reis EL, Nichi M, Souza AH, Baruselli PS. 2008.** Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology* 69: 167-175. doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.08.035
7. **Castilho C. 2003.** Divergência no crescimento folicular e sua influência sobre a competência oocitária para o desenvolvimento embrionário *in vitro* em novilhas da raça Nelore. Tese de Doutorado, Jaboticabal, Brasil: Universidade Estadual Paulista. 90 p.
8. **Castilho C, Garcia JM, Renesto A, Nogueira GP, Brito LF. 2007.** Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Anim Reprod Sci* 98: 189-196. doi: 10.1016/j.anireprosci.2006.03.008
9. **Gimenes LU. 2006.** Estudo da divergência folicular e da capacidade ovulatória em bubalinos (*Bubalus bubalis*) e zebuínos (*Bos indicus*). Dissertação Mestrado. São Paulo, Brasil: Universidade de São Paulo. 113 p.
10. **Gimenes LU, Sá Filho MF, Carvalho NA, Torres-Júnior JR, Souza AH, Madureira EH, Trinca LA, et al. 2008.** Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology* 69: 852-858. doi: 10.1016/j.theriogenology.2008.01.001
11. **Gimenes LU. 2010.** Taxa de recuperação *in vivo* e competência *in vitro* de oócitos bubalinos, zebuínos, e taurinos aspirados em diferentes fases da onda de crescimento folicular. Tese de Doutorado. São Paulo, Brasil: Universidade de São Paulo. 122 p.



12. **Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K. 1996.** Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod* 55: 1187-1194. doi: 10.1095/biolreprod55.6.1187
13. **Ginther OJ, Bergfelt DR, Beg MA, Kot K. 2001.** Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. *Biol Reprod* 64: 197-205. doi: 10.1095/biolreprod64.1.197
14. **Ginther, OJ, Wiltbank, MC, Fricke, PM, Gibbons, JR, Kot, K. 1996.** Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod* 55:1187-1194.
15. **Ginther, OJ, Bergfelt, DR, Beg, MA, Kot, K. 2001.** Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. *Biol Reprod* 64: 197-205.
16. **Martinez CG 1995.** The Colombian cattle breeds. In: Proc Third Global Conference on Conservation of Domestic Animal Genetic Resources. Ontario, Canada.
17. **Martínez CG 2004.** Poblaciones actuales y estrategias para la conservación de los bovinos criollos y colombianos. En: II Foro Nacional de Razas Bovinas Criollas y Colombianas. Palmira, Colombia.
18. **Mollo MR, Rumpf R, Martins AC, Mattos MCC, Lopes G, Carrijo LHD, Sartori, R. 2007.** Ovarian function in Nelore heifers under low or high feed intake. *Acta Sci Vet* 35: 958.
19. **Moreno F, Bedoya G, Derr JN, Carvajal LG, Bermúdez N, Zuluaga FN. 2001.** Diversidad y relaciones filogenéticas del ganado criollo colombiano. *Corpoica* 3: 17-25.
20. **Narváez HJ. 2013.** Efeito de norgestomet na sincronização da onda folicular e produção *in vitro* de embriões de vacas da raça Gir e Holandesa. Tese de Doutorado. Brasil: Universidade Estadual do Norte Fluminense. 97 p.
21. **[FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2009.** La agricultura mundial en la perspectiva del año 2050. [Internet]. Disponible en: [http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/Issues\\_papers/Issues\\_papers\\_SP/La\\_agricultura\\_mundial.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/Issues_papers/Issues_papers_SP/La_agricultura_mundial.pdf)
22. **Ossa G, Suárez MC. 2004.** Factores genéticos y ambientales en caracteres productivos y reproductivos de la raza criolla colombiana romosinuano. En: II Foro Nacional de Razas Bovinas Criollas y Colombianas. Palmira, Colombia.
23. **Pontes JH, Silva KC, Basso AC, Rigo AG, Ferreira CR, Santos GM, Sanches BV, et al. 2010.** Large-scale *in vitro* embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm. *Theriogenology* 74: 1349-1355. doi: 10.1016/j.theriogenology.2010
24. **Ribeiro ES, Bisinotto RS, Lima FS, Greco LF, Morrison A, Kumar A, Thatcher WW, et al. 2014.** Plasma anti-Mullerian hormone in adult dairy cows and associations with fertility. *J Dairy Sci* 97: 6888-6900. doi: 10.3168/jds.2014-7908
25. **Sales JNS. 2011.** Efeito da dieta com alta energia nos parâmetros metabólicos, endócrinos e reprodutivos de vacas *Bos indicus* e *Bos taurus*. Tese de Doutorado. São Paulo, Brasil: Universidade de São Paulo. 161 p.
26. **Sartorelli ES. 2003.** Caracterização da fase de desvio folicular em novilhas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*). Tese de Mestrado. Botucatu, Brasil: Universidade Estadual Paulista. 63 p.
27. **Sartorelli ES, Carvalho LM, Bergfelt DR, Ginther OJ, Barros CM. 2005.** Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. *Theriogenology* 63: 2382-2394. doi: 10.1016/j.theriogenology.2005-08.017
28. **Townson DH, Tsang PC, Butler WR, Frajblat M, Griel LC, Johnson CJ, Milvae RA, et al. 2002.** Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *J Anim Sci* 80: 1053-1058. doi: 10.2527/2002.8041053x

29. **Utt MD, Jousan FD, Beal WE. 2003.** The effects of varying the internal from follicular wave emergence to progestin withdrawal on follicular dynamics and the synchro of estrus in beef cattle. *J Animal Sci* 81: 1562-1567. doi: 10.2527/2003-8161562x
30. **Viana JH, Ferreira A, Sá W, Camargo LS. 2000.** Follicular dynamics in zebu-cattle. *Pesqui Agropecu Bras* 35: 2501-2509. doi: 10.1590/S0100-204X2000-001200021
31. **Zeitoun MM, Rodriguez HF, Randel RD. 1996.** Effect of season on ovarian follicular dynamics in Brahman cows. *Theriogenology* 45: 1577-1581. doi: 10.1016/0093-691X(96)00126-4