

EFFECTO DE LA DOSIS DE eCG SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FOLICULARES Y LUTEALES, MOMENTO Y TASA DE OVULACIÓN DE NOVILLAS MESTIZAS CEBÚ SINCRONIZADAS CON PROGESTÁGENO INTRAVAGINAL

Effect of the eCG Dose on Follicular and Luteal Characteristics, Ovulation Time and Ovulation Rate of Crossbred Zebu Heifers Synchronized With an Intravaginal Progestagen Device

Germán E. Portillo-Martínez^{*,1}, Juan C. Gutiérrez-Añez^{*} y Aitor D. De Ondiz^{*}

**Unidad de Investigación en Reproducción Animal (UNIRA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela*

Correo-E:german.portillo@fcv.luz.edu.ve

Recibido: 05/11/14 - Aprobado: 29/07/15

RESUMEN

Para evaluar el efecto de una dosis reducida de la gonadotropina coriónica equina (eCG) sobre el crecimiento folicular, las características luteales, el momento de la ovulación y la tasa de ovulación en novillas mestizas cebú sincronizadas con un progestágeno intravaginal, se seleccionaron 41 novillas cíclicas. Para la sincronización se utilizó una esponja intravaginal (EI) impregnada con 250 mg de medroxi-acetato-progesterona (MAP), bajo el protocolo siguiente: Día 0: Inserción de la EI más 2 mg de benzoato de estradiol (BE) IM y 25 mg de PGF_{2α} IM; Día 6: 12,5 mg de PGF_{2α}, 21 novillas recibieron 400 UI de eCG IM (T1; n=21) y 20 recibieron 200 UI (T2; n=20); Día 8: retiro de EI; Día 9: 0,5 mg de BE IM. La evaluación ultrasonográfica se realizó entre los días 6 y 8, cada 24 h, para determinar la tasa de crecimiento folicular (TCF). A partir del día 8 hasta la ovulación, se evaluaron cada 8 h para determinar el diámetro del folículo ovulatorio (DFO), el momento de la ovulación (MO), el diámetro y área del cuerpo lúteo (DCL y ACL), así como la tasa de ovulación (TO). Las variables TCF, DFO, DCL y ACL se analizaron con el PROC GLM, mientras que el MO mediante el procedimiento NPAR1WAY y la TO mediante

ABSTRACT

The effect of a reduced dose of eCG on follicular growth, luteal characteristics, ovulation time (OT) and ovulation rate (OR) was evaluated in crossbred Zebu heifers synchronized with an intravaginal progestagen device. A total of 41 cyclic heifers was selected and synchronized with an intravaginal sponge (IE) impregnated with 250 mg of medroxyprogesterone-acetate (MPA), using the following protocol. Day 0: insertion of IE plus 2 mg of estradiol benzoate (EB) IM and 25 mg of PGF_{2α} IM. Day 6: 12.5 mg of PGF_{2α}, 21 heifers received 400 IU eCG IM (T1; n = 21) and 20 received 200 IU (T2; n = 20). Day 8: IE withdrawal. Day 9: 0.5 mg of BE IM. Heifers were timed-artificial inseminated (TAI) between 52 and 56 h after IE withdrawal. Ultrasound evaluation was performed between d 6 until d 8, every 24 h, to determine the rate of follicular growth (FGR). Then, from d 8 until ovulation, heifers were evaluated every 8 h to determine diameter of the ovulatory follicle (DOF), OT, and diameter (CLD) and area (CLA) of the corpus luteum. The OR was also assessed. The variables FGR, DOF, CLD and CLA were analyzed using PROC GLM, while OT was analyzed using the NPAR1WAY procedure and OR using Chi-square with PROC FREQ from

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

χ^2 , utilizando el PROC FREQ del SAS. No hubo diferencias en las variables TCF, DFO y ACL ($1,44 \pm 0,27$ vs. $1,72 \pm 0,27$ mm/d; $12,61 \pm 0,47$ vs. $13,85 \pm 0,47$ mm y $33,9 \pm 2,1$ vs. $30,3 \pm 2,4$ mm² para T1 y T2, respectivamente). Las ovulaciones ocurrieron en promedio $61,67 \pm 1,8$ y $62,73 \pm 1,92$ h, respectivamente después de retirado el dispositivo para T1 y T2. El DCL fue mayor ($P < 0,05$) en T1 que en T2 ($21,7 \pm 1,44$ vs. $16,9 \pm 1,56$ mm). Se encontraron mayores porcentajes para la TO ($P = 0,06$) en el grupo T1 que en T2 ($95,25$ vs. 75%). En conclusión, la dosis de 200 UI de eCG fue suficiente para inducir un adecuado crecimiento folicular y no afectar el momento de la ovulación y la dosis de 400 UI de eCG mejoró las características del cuerpo lúteo y permitió obtener un mayor número de ovulaciones en novillas mestizas cebú sincronizadas con un progestágeno intravaginal.

(Palabras clave: Novillas mestizas; folículos ováricos; progestágenos; eCG; Zulia)

INTRODUCCIÓN

Para acelerar los programas de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en Venezuela, se requiere la incorporación de mayor número de vientres posibles, entre éstas, vacas y novillas de reemplazo. Los avances recientes en los programas de sincronización de la ovulación en programas de IATF en bovinos, representan una alternativa de valor incalculable para una expansión vertiginosa de la inseminación artificial; no sólo en fincas tecnificadas, sino en todos los niveles (pequeños, medianos y grandes productores), ya que permite una mayor flexibilidad y programación de la inseminación en un momento predeterminado sin la detección del celo [1-4]. Sin embargo, las bajas tasas de preñez obtenidas en las novillas durante estos programas han limitado su utilización. Se ha demostrado que la inclusión de la gonadotropina coriónica equina (eCG) para los protocolos de IATF, es efectiva para incrementar el desarrollo folicular y la preñez en vacas de carne en anestro [3, 5] y en novillas [6]. La eficiencia de esta hormona está asociada a su actividad FSH y LH [7], lo cual estimula el crecimiento folicular y, en consecuencia, incrementa la tasa de ovulación [8]. Sin embargo, el

SAS. No differences were found in FGR, DOF, and CLA (1.44 ± 0.27 vs. 1.72 ± 0.27 mm/d; 12.61 ± 0.47 vs. 13.85 ± 0.47 mm and 33.9 ± 2.1 vs. 30.3 ± 2.4 mm² for T1 and T2, respectively). Ovulations occurred at 61.67 ± 1.8 h and 62.73 ± 1.92 h, respectively, after IE withdrawal for T1 y T2, respectively. The CLD in T1 was higher ($P < 0.05$) than T2 (21.7 ± 1.44 vs. 16.9 ± 1.56 mm). Higher OR ($P = 0.06$) were found in T1 than in T2 (95.25 vs. 75.0%). In conclusion, the dose of 200 IU of eCG was sufficient to induce an suitable follicular growth without affecting OT and dosing with 400 IU of eCG improved the corpus luteum characteristics and allowed to obtain a greater number of ovulations in crossbred Zebu heifers synchronized with an intravaginal progestagen.

(Key words: Crossbreed heifers; ovarian follicles; progestagens; eCG; Zulia)

constante incremento del precio de los insumos juega un papel preponderante en los costos de los protocolos para la IATF.

El objetivo general de esta investigación fue evaluar la eficacia de una dosis reducida de eCG dentro de un protocolo hormonal con progestágenos, sobre el crecimiento folicular, las características luteales, el momento de la ovulación y el porcentaje de ovulación, para el establecimiento de programas de IATF en novillas mestizas cebú de doble propósito.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Ensayo

El ensayo se realizó en una finca comercial doble propósito ubicada en el municipio Machiques de Perijá, estado Zulia (125 msnm, N: $10^{\circ} 03' 37,25''$ y O: $72^{\circ} 36' 08,18''$), en una zona de vida caracterizada como bosque sub-húmedo tropical [9], con precipitaciones promedio anuales de 2.000 mm y temperatura promedio de 28°C .

Manejo de las Unidades Experimentales

Se utilizaron 41 novillas mestizas cebú (*Bos indicus* x *Bos taurus*), con una condición corporal

entre 3,0 y 4,0 (escala del 1 al 5; 1=muy flaca, 5=muy gorda) y un peso promedio de 345 kg, alimentadas con pasto Tanner (*Brachiaria erecta*) y se les suministró agua y una mezcla de sal mineral *ad libitum*. Para la sincronización del celo se utilizó una esponja intravaginal (EI) impregnada con 250 mg de medroxi-acetato-progesterona (MAP; 6 α -methyl-17 α -acetoxy-pregne-4ene3-20dione), bajo el protocolo siguiente (Figura 1): Día 0: Inserción de la EI (PREGNAHEAT®, VIATECA, Venezuela) más 2 mg de benzoato de estradiol (BE) IM y 25 mg de PGF2 α (Lutalyse®, Pharmacia & Upjohn, Kalamazoo, EUA¹) IM; [Día 6: 21 novillas recibieron 12,5 mg de PGF2 α , 400 UI de eCG] (Folligon, Intervet, Boxmeer, Holanda) im (T1; n =21) y 20, 200 UI de eCG (T2; n =20) y Día 8: retiro de la EI. Día 9: 0,5 mg de BE IM.

Evaluación Ultrasonográfica

Para la evaluación ultrasonográfica se utilizó un equipo de ultrasonido modelo SSD500 (Aloka, Japón) provisto de un transductor lineal con una frecuencia de 7,5 MHz en modo B. La evaluación se realizó al inicio de los tratamientos en ambos ovarios, para determinar las estructuras ováricas presentes. Los ovarios fueron explorados en sentido dorsoventral, lateral, medial y medial-lateral. Entre los días 6 y 8 se escanearon cada 24 h para evaluar las características foliculares. A partir del día 8 hasta la ovulación se evaluaron cada 8 h para determinar el diámetro del folículo ovulatorio, el momento de la ovulación, el diámetro y área del cuerpo lúteo. Para determinar la respuesta ovulatoria, las novillas fueron evaluadas entre los días 19 y 20 después de haberse iniciado los tratamientos y precisar la presencia de un cuerpo luteo (CL) indicativo de la ovulación. Se

consideró como ovulación a la desaparición del folículo ovulatorio (>10 mm) durante los días 9, 10 y 11 del experimento, y la consecuente formación de un CL en el mismo sitio (días 19 y 20, referidos anteriormente). El CL se identificó como una estructura esférica u ovalada, de aspecto granular e hipocogénico con respecto al estroma ovárico y en ocasiones con una cavidad central anecoica como lo describen Perea y Cruz [10] y Gutiérrez *et al.* [11].

Variables

Para determinar el efecto del tratamiento, se estudiaron las siguientes variables: Tasa de crecimiento folicular (TCF), diámetro del folículo ovulatorio (DFO), momento de la ovulación (MO), diámetro y área del cuerpo lúteo (DCL y ACL) y tasa de ovulación (TO).

Análisis Estadístico

Para el análisis de las variables se utilizaron diferentes procedimientos del paquete estadístico SAS [12]. Las variables TCF, DFO, DCL y ACL fueron analizadas mediante el procedimiento lineal, PROC GLM. Las pruebas estadísticas correspondientes a MO después del retiro de la EI, se hicieron mediante el test de Wilcoxon, utilizando el procedimiento NPARIWAY; mientras que la TO se analizó mediante el PROC FREQ [12].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de la TCF, DFO, MO, TO y DCL y ACL se presentan en el Cuadro 1. Todas las novillas tuvieron un crecimiento folicular progresivo, observándose que los folículos crecieron a una tasa de $1,44 \pm 0,27$ mm/d y de $1,72 \pm 0,27$ mm/d para los tratamientos con 400 UI (T1) y 200 UI (T2) de eCG, ($P > 0,05$). Con

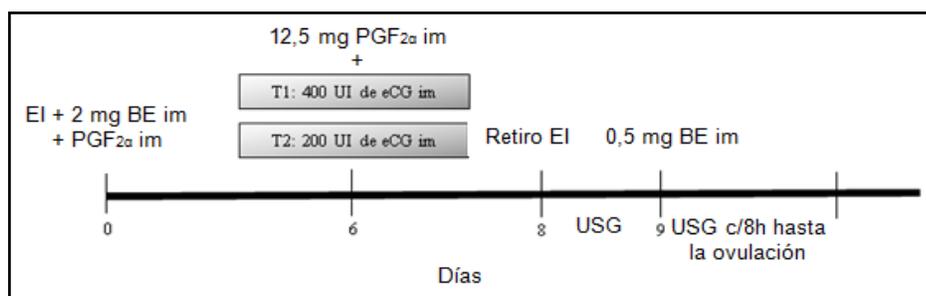


Figura 1. Protocolo de sincronización. **EI:** Esponja intravaginal impregnada con 250 mg de medroxi-acetato-progesterona (PREGNAHEAT®, VIATECA, Venezuela); **BE:** Benzoato de estradiol; PGF2 α (Lutalyse®, Pharmacia & Upjohn, Kalamazoo, EUA); **T1:** Tratamiento 1 (n = 21); **T2:** Tratamiento 2 (n = 20). USG: ultrasonografía

Cuadro 1. Tasa de crecimiento folicular, diámetro del folículo ovulatorio, momento de la ovulación, tasa de ovulación y diámetro y área del cuerpo lúteo en el grupo de novillas mestizas cebú que recibió una dosis reducida de 200 UI de eCG y en el grupo que recibió una dosis de 400 UI de eCG, dentro de un protocolo hormonal con progestágenos para la sincronización del celo y la ovulación en programas de IATF

VARIABLES	T1 (400 UI eCG)	T2 (200 UI eCG)
Tasa de crecimiento folicular (mm/d)	1,44±0,27 ^a	1,72±0,27 ^a
Diámetro del folículo ovulatorio (mm)	13,85±0,47 ^a	12,61±0,47 ^a
Momento de la ovulación (h)	62,73±1,92 ^a	61,67±1,8 ^a
Tasa de ovulación (%)	95,2 ^c (20/21)	75 ^d (15/20)
Diámetro cuerpo lúteo (mm)	21,7±1,4 ^a	16,9±1,56 ^b
Área del cuerpo lúteo (mm ²)	33,9±2,1 ^a	30,3±2,4 ^a

^{a, b} Superíndices diferentes en una misma fila difieren significativamente ($P < 0,05$). ^{c, d} Superíndices diferentes en una misma fila difieren significativamente ($P = 0,06$). Media ± Error Estándar

esto, las novillas alcanzaron un diámetro del folículo ovulatorio de $13,85 \pm 0,47$ y $12,61 \pm 0,47$ mm para T1 y T2, respectivamente ($P > 0,05$). Al respecto, Peres *et al.* [13], reportaron diámetros similares del folículo al momento de la IATF ($12,00 \pm 0,10$ mm) en novillas *Bos indicus* sometidas a un protocolo con progestágeno intravaginal (CIDR) por nueve días, a las cuales se les aplicó 300 UI de eCG al retiro del dispositivo intravaginal. Similarmente, diámetros equivalentes del folículo ovulatorio han sido observados por D'Enjoy *et al.* [14], en vacas Brahman con ciclos estruales normales ($12,6 \pm 0,4$ mm). Sin embargo, De Ondiz *et al.* [15], encontraron un menor diámetro del folículo ovulatorio ($11,7 \pm 2,4$ mm) en vacas mestizas cebú sincronizadas con Norgestomet y eCG, al momento del retiro del implante. También, a pesar de que la adición de eCG al momento de retirar el implante en novillas Nelore tratadas con Norgestomet [6], incrementó el tamaño del folículo de mayor tamaño, éste fue menor ($10,6 \pm 0,2$ mm) al alcanzado por las novillas del presente experimento. Además, la tasa de crecimiento del folículo de mayor tamaño en el trabajo de Sá Filho *et al.* [6] fue de ($1,14 \pm 0,1$ mm/d). Similarmente, en vacas Sindhi (*Bos taurus* x *Bos indicus*) tratadas con una combinación de CIDR más BE y PGF2 α más 400 UI de eGC al momento del retiro del implante el día ocho, Rodrigues *et al.* [16], observaron que el diámetro máximo del folículo dominante fue de 8,8 mm, con una tasa de crecimiento de 0,8 mm/d, valores inferiores a los encontrados en este estudio. Posiblemente, las diferencias con esos tres últimos reportes se deban a que en el presente ensayo, se administró la eCG 48 h antes de retirar la

EI, promoviendo así una tasa mayor de crecimiento folicular.

El 35,1% y 33,3% de las ovulaciones ocurrió entre 48 y 60 h, mientras que el 64,5% y 66,6% ocurrió entre 61 y 72 h después de retirado el dispositivo, para T1 y T2, respectivamente ($P > 0,05$). En contraste, en el trabajo de Rodrigues *et al.* [16] utilizando vacas Sindhi (*Bos taurus indicus*) tratadas con una combinación de un CIDR más BE y PGF2 α más 400 IU de eGC al momento del retiro del implante el día ocho, el momento de la ovulación fue más tardío (82,5 h después de retirar el implante). Al respecto, se ha demostrado en hembras *Bos taurus* y *Bos indicus* [17-19], que el tratamiento con eCG al momento del retiro del implante con progesterona, no afecta el momento de la ovulación siguiente.

A pesar de que el DCL fue mayor ($P < 0,05$) en T1 vs. T2 ($21,7 \pm 1,44$ vs. $16,9 \pm 1,56$ mm, respectivamente), no hubo diferencias en el ACL entre T1 ($33,9 \pm 2,1$ mm²) y T2 ($30,3 \pm 2,4$ mm²). El DCL observado en el presente estudio para las novillas en el T2, fue similar al de Figueiredo *et al.* [20] en vacas Nelore (17,0 mm) y De Ondiz *et al.* [15] en vacas mestizas cebú (16,5 mm). Esto puede indicar que al aplicar 400 UI de eCG, 48 h antes del retiro del implante, se favorece la maduración del folículo dominante, obteniéndose una mayor tasa de ovulación, con un mejor desarrollo subsiguiente del cuerpo lúteo. De hecho, Bó *et al.* [21] concluyen que los resultados de sus experimentos sugieren que el incremento en las tasas de preñez relacionados con la aplicación de eCG en vacas mestizas *Bos taurus* x *Bos indicus* con pobre a moderada condición

corporal, puede ser debido a la tasa de crecimiento folicular final del folículo ovulatorio.

Se encontraron mayores valores en la TO ($P=0,06$) en el grupo T1 (95,25%) que en T2 (75,0%). De igual manera, Peres *et al.* [13] observaron una TO más elevada en novillas *Bos indicus* sometidas a un protocolo con CIDR por nueve días, a las cuales se les aplicó 300 UI de eCG al retiro del dispositivo intravaginal (94,3%), en comparación con las que recibieron 200 UI de eCG (88,5%).

La optimización de la salud y del tamaño del folículo ha sido un objetivo importante en los programas reproductivos actuales, especialmente en la IATF [22, 23]. Los folículos ovulatorios de mayor tamaño presentan una tasa de ovulación mayor, lo que resulta en una tasa de preñez mayor por IA en ganado de carne [24, 25]. Asimismo, la presencia de folículos más grandes al momento de la IATF en vacas de carne, mejora la tasa de ovulación, lo cual pudiera ser lo que mediara el aumento en las tasas de preñez. Además, al considerar sólo las vacas que ovulan después de la IATF, las tasas de preñez se incrementan en la medida en que el tamaño del folículo es mayor [25]. Sin embargo, el diámetro máximo del folículo ovulatorio y del CL en ganado *Bos indicus* es menor a los reportados para el ganado *Bos taurus* y esto es debido probablemente a una menor capacidad en la secreción de LH en el ganado *Bos indicus* [26, 27]. También, Barreiros *et al.* [28], concluyen que el tratamiento con eCG mejora la fertilidad de vacas en anestro al proveer tasas de crecimiento folicular y tamaños del folículo ovulatorio similares a los de vacas cíclicas. Por lo tanto, además del incremento en la tasa de ovulación, la ovulación de folículos de mayor tamaño podría ser responsable de otros eventos tales como el mejoramiento de la producción endógena de estradiol, la competencia de los ovocitos, el diámetro del CL y la concentración de progesterona en el subsecuente ciclo estral, lo cual podría beneficiar la fertilidad del ganado luego de la IATF.

Estudios previos han demostrado que las hembras tratadas con eCG exhiben una tasa de crecimiento folicular elevada, un mayor diámetro del folículo dominante al momento de la IATF y una mayor tasa de ovulación [5, 6, 8]. También, el tratamiento con eCG incrementa las concentraciones circulantes de progesterona en el subsecuente ciclo estral [3, 6]. El incremento en la concentración de progesterona en las vacas tratadas con eCG, puede ser el resultado

de un mayor volumen del CL, una alteración en la maquinaria celular involucrada en la síntesis luteal de progesterona [29], o una combinación entre esos factores. Se ha demostrado que la eCG incrementa la expresión de P450_{scc} y β -HSD [29] y hay indicaciones de cambios celulares (incremento en la densidad de mitocondrias esféricas y el número total de células luteales grandes) en el CL, relacionados con el aumento en la producción hormonal [30]. Todo esto podría resultar en mayores tasas de preñez. Así, se ha observado un incremento en dichas tasas con el uso de la eCG, tal como lo reportan Sá Filho *et al.* [6, 8], quienes observaron un incremento significativo en las tasas de preñez de novillas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas y en anestro (36,8% y 50,0%, respectivamente; $P=0,04$) tratadas con eCG.

CONCLUSIONES

La dosis de 200 UI de eCG fue suficiente para inducir un adecuado crecimiento folicular y no afectar el momento de la ovulación; así mismo, la dosis de 400 UI de eCG incrementó el número de ovulaciones, mejoró las características del cuerpo lúteo en novillas mestizas cebú sincronizadas con un progestágeno intravaginal.

AGRADECIMIENTO

Los autores expresan especial agradecimiento al CONDES, a través del Programa de Investigación CC-0618-10, con los proyectos: Evaluación de un programa de múltiple ovulación y transferencia de embriones (MOET) en el mejoramiento de los rebaños de doble propósito y Efecto de la dosis de eCG sobre la dinámica folicular y características luteales de novillas sincronizadas con un progestágeno intravaginal para programas de IATF, por el financiamiento de estos trabajos de Investigación.

REFERENCIAS

1. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂ α and GnRH. *Theriogenology*. 1995; 44: 915-23.
2. Bó G, Adams G, Pierson R, Mapletoft R. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology*. 1995; 43: 31-40.
3. Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bó GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in

- tropical climates. Anim Reprod Sci. 2004; 82-83: 479-86.
4. Bó GA, Baruselli PS, Mapletoft RJ. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. Anim Reprod. 2013; 10: 137-42.
 5. Sales JNS, Crepaldi GA, Girotto RW, Souza AH, Baruselli PS. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. Anim Reprod Sci. 2011; 124: 12-18.
 6. Sá Filho MF, Torres-Júnior JRS, Penteado L, Gimenes LU, Ferreira RM, Ayres H, et al. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. Anim Reprod Sci. 2010; 118: 182-87.
 7. Murphy BD, Martinuk SD. Equine chorionic gonadotropin. Endocr Rev. 1991; 12: 27-43.
 8. Sá Filho MF, Ayres H, Ferreira RM, Marques MO, Reis EL, Silva RC, et al. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. Theriogenology. 2010; 73: 651-58.
 9. Fuenmayor W, Strauss E. Atlas Estado Zulia: Síntesis Socio Histórico Cultural y Geográfica. Splanos, Maracaibo-Venezuela. 2005; 182 p.
 10. Perea F, Cruz R. Usos de la ultrasonografía en la evaluación reproductiva de la vaca. En: C. Gonzalez-Stagnaro (Ed.). Reproducción Bovina. Fundación Girarz, Maracaibo-Venezuela. 2001; p. 357-72.
 11. Gutiérrez-Añez J, Boscán-Ocando J, Montero-Urdaneta M, Portillo-Martínez G. Dinámica folicular de vacas mestizas en anestro tratadas con un progestágeno intravaginal más eCG y PGF2 α . Arch. Latinoam Prod Anim. 2007; 15: 1-4.
 12. Statistical Analysis System. SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA. 2002.
 13. Peres RFG, Claro Júnior I, Sá Filho OG, Nogueira GP, Vasconcelos JLM. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. Theriogenology. 2009; 72:681-89.
 14. D'Enjoy D, Cabrera P, Perozo E, Díaz T. Dinámica folicular ovárica durante el ciclo estral en vacas Brahman en Venezuela. En: XIX Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Tampico, México. 26 al 28-10. Arch. Latinoam. Prod. Anim. 2005; 13: 128.
 15. De Ondiz A, Perea F, Cruz R, Portillo G, Soto E. Evaluación ultrasonográfica del crecimiento del foliculo ovulatorio en vacas anéstricas mestizas cebú post-tratamiento con Norgestomet y eCG. Arch Latinoam Prod Anim. 2002; 10: 20-24.
 16. Rodrigues Costa Mello RR, Bourg de Mello MR, Ferreira JE, Toledo Barbosa da Silva AP, Mascarenhas LM, Ferreira da Silva BJ, et al. Reproductive parameters of Sindhi cows (*Bos taurus indicus*) treated with two ovulation synchronization protocols. R Bras Zootec. 2013; 42: 414-20.
 17. Sá Filho MF, Reis EL, Viel Jr. JO, Nichi M, Madureira EH, Baruselli PS. Follicular dynamics in anestrus lactating Nelore treated with ear implant, eCG and GnRH. Acta Scientiae Veterinariae. 2004; 32: 235(Abstr.).
 18. Duffy P, Crowe MA, Austin EJ, Mihm M, Boland MP, Roche JF. Effect of eCG or estradiol at or after norgestomet removal on follicular dynamics, estrus and ovulation in early post-partum beef cows nursing calves. Theriogenology. 2004; 61: 725-34.
 19. Maraña D, Cutaia L, Peres L, Pincinato D, Borges LFK, Bó GA. Ovulation and pregnancy rates in postpartum *Bos indicus* cows treated with progesterone vaginal inserts and oestradiol benzoate, with or without eCG and temporary weaning. Reprod Fertil Develop. 2006; 18: 116-17. (Abstr.).
 20. Figueiredo R, Barros C, Pinheiro O, Soler J. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. Theriogenology. 1997; 47:1489-1505.
 21. Bó GA, Cutaia L, Peres LC, Pincinato D, Maraña D, Baruselli PS. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. En: Juengel JL, Murray JF, Smith MF (Ed.). Reproduction in Domestic Ruminants VI. Nottingham, UK: Nottingham University Press. 2007. p. 223-36.
 22. Wiltbank MC, Sartori R, Herlihy MM, Vasconcelos JLM, Nascimento AB, Souza AH, et al. Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. Theriogenology. 2011; 76:1568-82.
 23. Baruselli PS, Sá Filho MF, Ferreira RM, Sales JNS, Gimenes LU, Vieira LM, et al. Manipulation of follicle development to ensure optimal oocyte quality and conception rates in cattle. Reprod Dom Anim. 2012; 47 (Suppl. 4):134-41.
 24. Perry GA, Smith MF, Roberts AJ, Macneil MD, Geary TW. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. J Anim Sci. 2007; 85:684-89.
 25. Sá Filho MF, Crespilho AM, Santos JE, Perry GA, Baruselli PS. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in

- suckled *Bos indicus* cows. Anim Reprod Sci. 2010; 120: 23-30.
26. Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. Anim Reprod Sci. 2003; 78: 307-26.
27. Portillo GE, Bridges GA, de Araujo JW, Shaw MKV, Schrick FN, Thatcher WW, *et al.* Response to GnRH on day 6 of the estrous cycle is diminished as the percentage of *Bos indicus* breeding increases in Angus, Brangus, and Brahman x Angus heifers. Anim Reprod Sci. 2008; 103: 38-51.
28. Barreiros TRR, Blaschi W, Santos GMC, Morotti F, Andrade ER, Baruselli PS, *et al.* Dynamics of follicular growth and progesterone concentrations in cyclic and anestrus suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with progesterone, equine chorionic gonadotropin, or temporary calf removal. Theriogenology. 2014; 81:651-56.
29. Fátima LA, Rigoglio NN, Souza LMMC, Gimenes LU, Rennó FP, Baruselli PS, *et al.* Influence of eCG on steroidogenic features in bovine corpus luteum. Anat Histol Embryol. 2010; 39:285(Abstr.).
30. Rigoglio NN, Fátima LA, Hanassaka JY, Pinto GL, Machado ASD, Gimenes LU, *et al.* Equine chorionic alters luteal cell morphologic features related to progesterone synthesis. Theriogenology. 2013; 79:673-79.