

DINÁMICA FOLICULAR OVÁRICA EN VACAS REPETIDORAS: ESTUDIO ECOGRÁFICO Y PERFIL DE PROGESTERONA

Pérez Marín, C.C., I. Rodríguez Artiles, J. Dorado Martín, M. Hidalgo Prieto, S. Corral Peña y J. Sanz Parejo. 2007. Fac. de Veterinaria, Univ. de Córdoba, España; Ctro. de Invest. y Form. Agraria, Andalucía, España.
www.produccion-animal.com.ar

RESUMEN

El objetivo de este trabajo era caracterizar los patrones de desarrollo folicular en 18 vacas repetidoras de celos a lo largo de ciclos sexuales espontáneos. Se llevaron a cabo exámenes ecográficos de los ovarios durante 32 días posteriores a la inseminación, observándose que el patrón de dos ondas era el más frecuente en vacas repetidoras alcanzando un 72,2 p.100, mientras que los de 3 ondas estuvieron presentes en el 16,6 p.100 de los ciclos estudiados. Se registraron ciclos con 1 y 4 ondas, aunque esta condición es muy poco frecuente. El diámetro del folículo ovulatorio fue mayor en ciclos con menos número de ondas ($p < 0,01$); no se detectaron diferencias entre folículos dominantes ovulatorios o anovulatorios. Las concentraciones de progesterona no mostraron diferencias entre los distintos patrones de crecimiento folicular. Se apreció que los ciclos con más ondas foliculares estaban acompañados de intervalos interovulatorios más largos y aparecía en vacas más viejas. El diámetro folicular ovulatorio medio alcanzó $1,78 \pm 0,36$ cm.. Los resultados permiten afirmar que la dinámica folicular más frecuente en vacas repetidoras es la de dos ondas.

INTRODUCCIÓN

La foliculogénesis se define como una serie de procesos recurrentes de reclutamiento, selección, crecimiento, maduración y ovulación durante el ciclo estral de la hembra, regulados por una combinación de interacciones entre hormonas, factores de crecimiento, sistemas de comunicación celular y genes (Roche y Boland, 1991). Hasta que comienza a aplicarse la ultrasonografía a tiempo real, los conocimientos sobre desarrollo folicular eran deducidos indirectamente a través del estudio de patrones cíclicos de gonadotropinas y hormonas esteroides, y/o experimentalmente usando técnicas de medida y recuento de folículos en ovarios de matadero, por laparoscopia después de marcarlos, etc. (Rajakoski, 1960; Dufour et al., 1972; Ireland y Roche, 1983; Fortune, 1993). Gracias al empleo de la ecografía en vacuno se han conseguido establecer los patrones de crecimiento folicular en hembras prepúberes con 2 semanas de edad (Evans et al., 1994), en novillas (Savio et al., 1988; Ginther et al., 1989b; Sunderland et al., 1994); en vacas postparto (Savio et al., 1990), en gestantes (Pierson y Ginther, 1986; Ginther et al., 1989c; Savio et al., 1990; Thatcher et al., 1991; Ginther et al., 1996), en vacas anovulatorias (McDougall et al., 1995), o en vacas que habían recibido tratamientos de sincronización de celos (Sirois y Fortune, 1990; Stock y Fortune, 1993).

Un concepto importante cuando se hace referencia a la dinámica folicular durante el ciclo estral en vacuno es el de ondas foliculares. Algunos investigadores sostenían que el crecimiento folicular era continuo e independiente del ciclo (Donaldson y Hansel, 1968; Dufour et al., 1972; Spicer and Echterkamp, 1986), pero Rajakoski (1960) introdujo este nuevo concepto de onda folicular, afirmando que la población de folículos que emergen en los ovarios durante el ciclo estral se caracterizan por una fase de crecimiento, seguida de una fase estática y final mente ovulan o entran en atresia, con diferentes patrones de desarrollo, siendo los más frecuentes aquellos compuestos por dos (Pierson y Ginther, 1988; Ginther et al., 1989b; Stock y Fortune, 1993; Carriere et al., 1995) y tres ondas foliculares (Ireland y Roche, 1983; Stock y Fortune, 1993; Fortune, 1993; Carriere et al., 1995; Taya et al., 1996). También es posible encontrar ciclos estrales con 1 ó 4 ondas foliculares, aunque no es lo más frecuente (Sirois y Fortune, 1988; Savio et al., 1988; Carriere et al., 1994).

Hasta ahora, no existían trabajos que caracterizaran la dinámica folicular presentada por vacas repetidoras o repeat breeder cows (RBC) a lo largo de sus ciclos estrales espontáneos, posiblemente debido a la dificultad que entraña conseguir un lote de vacas con estas características sin intervenir hormonalmente sobre ellas. Vacas con este síndrome se caracterizan por presentar ciclos estrales repetidos, fracasando la gestación al menos 3 veces seguidas, debido a causas multifactoriales (Lafi y Kaneene, 1988; Bruyas et al., 1993; Pérez, 2001). El conocimiento de la dinámica folicular es particularmente importante en estos animales, no sólo para comprender mejor los mecanismos ováricos, sino también porque, desde un punto de vista aplicativo, podría ayudar a mejorar los rendimientos de los tratamientos conceptivos. Así mismo, resulta interesante controlar la aparición de más o

menos ondas en el ciclo, con objeto de mejorar el manejo reproductivo. Todo ello, lleva a continuar las investigaciones sobre dinámica folicular, y en este trabajo se presentan los resultados obtenidos en RBC de celos, aportando datos acerca de las características de sus ciclos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron un total de 18 vacas Holstein Freisian repetidoras de celos, localizadas en el sur de España (38° 02' N 4° 10' W), que habían sido seleccionadas en base a su historial reproductivo. Estos animales habían sido inseminados 3 o más veces consecutivas, presentado ciclos de duración normal, tasa media de servicios por concepción de 3,2, su edad oscilaba entre 3 y 10 años, buena condición corporal, al menos un parto y no habían recibido ningún tratamiento hormonal al menos en los 2 ciclos anteriores. La detección del estro se realizó mediante observación diaria de los animales, durante 20 min, 3 veces al día, y fueron inseminadas siguiendo la regla AM/PM.

Cada vaca fue sometida, desde el día en que era inseminada (día 0), a exploraciones manuales y ecográficas de su aparato reproductor cada 4 días, hasta finalizar el día 32. Se empleó un ecógrafo Aloka SSD210 DX, con sonda de 5,0 Mhz de barrido lineal, obteniéndose imágenes estáticas mediante una videoimpresora de papel térmico Sony UP850, que se analizaban posteriormente.

Se estudiaron los folículos ovulatorios presentes el día 0 o primer día de estudio (n=18) y los formados en el siguiente ciclo (n=8). Los folículos fueron medidos, indicando su localización (OD/OI), cuantificando su número por ovario, ondas foliculares y valorando las características del folículo ovulatorio. Para el cálculo del diámetro medio de las estructuras ováricas se empleó la siguiente fórmula: \bar{O} altura x anchura. Las ondas foliculares y los folículos ovulatorios fueron caracterizados atendiendo al tamaño folicular, día en que se originaban, día en que alcanzaba el máximo tamaño, duración del crecimiento folicular, tasa de crecimiento, duración de la atresia folicular y tasa de atresia.

El CL fue monitorizado por ecografía y se calculó la cantidad de tejido luteal total ($\frac{1}{2}$ longitud x $\frac{1}{2}$ anchura x p; si el CL era cavitario, el área de la cavidad no se tenía en cuenta).

Muestras sanguíneas fueron tomadas de los vasos coxígeos para determinar los niveles de progesterona plasmática que servirían como indicadores de la funcionalidad de la glándula.

La cantidad de progesterona liberada fue medida los días 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28 y 32, y el área bajo la curva fue obtenida empleando la fórmula trapezoidal.

Tabla 1.- Características foliculares en RBC(n=1) con ciclo de una onda

Características de los folículos	1ª onda
Día de origen	
Tamaño máximo	1,6
Día de máximo tamaño	19
Duración del crecimiento folicular	11
Tasa de crecimiento	0,145
Duración de la atresia folicular	--
Tasa de atresia	--

Las determinaciones de progesterona en plasma se realizaron mediante RIA en fase líquida con extracción, cuya sensibilidad era 0,016 ng/ml, y los coeficientes de variación intra e interensayo fueron 10,4 p.100 (n=8) y 13,6 p.100 (n=6), respectivamente. Se realizaron análisis de varianza para determinar si el número de ondas foliculares del ciclo estral estaba relacionado con el tamaño folicular máximo, día en que se alcanzó ese tamaño máximo, duración del crecimiento folicular, tasa de crecimiento folicular, duración de la atresia folicular, tasa de atresia y concentración de progesterona. El test de Duncan fue empleado cuando las diferencias entre grupos eran significativas ($p < 0,05$). Se utilizó el programa estadístico SPSS 8.0 for Windows.

RESULTADOS

El folículo ovulatorio fue descrito ecográficamente como una estructura redondeada anecogénica, con bordes muy bien delimitados por una capa hiperecogénica, correspondiente a la pared folicular. El diámetro medio observado en los 26 folículos ovulatorios estudiados fue de $1,78 \pm 0,36$ cm., oscilando entre 1,2 y 2,5 cm.

Tras la ovulación, comenzaron a crecer nuevos folículos dominantes (FD), apreciándose 2 ondas foliculares en el 72,2 p.100 (13/18) y 3 ondas en el 16,6 p.100 (3/18) de los animales. Respecto a los ciclos de 1 y 4 ondas foliculares, mostraron una frecuencia de 5,6 p.100 y 5,6 p.100, respectivamente.

Tabla 2.- Características foliculares en RBC (n=13) con ciclos de 2 ondas

Características de los folículos	1ª onda	2ª onda
Día de origen		11,62
Tamaño máximo	1,69 ± 0,35	1,71 ± 0,19
Día de máximo tamaño	11,0 ± 2,83	22,08 ± 2,47
Duración del crecimiento folicular	9,31 ± 3,47	10,46 ± 5,14
Tasa de crecimiento	0,205 ± 0,08	0,207 ± 0,09
Duración de la atresia folicular	11,62 ± 6,4	--
Tasa de atresia	0,196 ± 0,12	--

Tabla 3.- Características foliculares en RBC (n=3) con ciclos de 3 ondas

Características de los folículos	1ª onda	2ª onda	3ª onda
Día de origen		3	15
Tamaño máximo	1,7 ± 0,13	1,43 ± 0,4	1,25 ± 0,48
Día de máximo tamaño	8 ± 0	14,67 ± 4,62	23,67 ± 1,15
Duración del crecimiento folicular	9 ± 0	11,67 ± 2,31	8,67 ± 4,04
Tasa de crecimiento	0,189 ± 0,015	0,132 ± 0,06	0,185 ± 0,15
Duración de la atresia folicular	7,33 ± 2,89	12 ± 2,65	
Tasa de atresia	0,274 ± 0,16	0,119 ± 0,01	

Marcadas diferencias ($p < 0,01$) aparecieron en el tamaño medio del folículo ovulatorio (día 0) dependiendo del número de ondas foliculares desarrolladas durante el ciclo estral. Se observó que cuando el tamaño del folículo ovulatorio era mayor, se sucedían menos ondas foliculares en el ciclo: aquellos ciclos con dos ondas tuvieron un diámetro medio igual a $1,88 \pm 0,2$ cm.; en ciclos de tres ondas, el tamaño fue inferior ($1,45 \pm 0,2$ cm.); la diferencia fue muy marcada en los 2 únicos ciclos sexuales observados con una (2,5 cm.) y cuatro ondas (1,3 cm.).

Las características observadas en los ciclos estrales con diferentes patrones de crecimiento folicular se muestran en las tablas I, II, III y IV.

Tabla 4.- Características foliculares en RBC (n=1) con ciclos de 4 ondas

Características de los folículos	1ª onda	2ª onda	3ª onda	4ª onda
Día de origen		11	15	22
Tamaño máximo	1	1,9	1,9	1,3
Día de máximo tamaño	4	16	20	27
Duración del crecimiento folicular	5	5	5	5
Tasa de crecimiento	0,2	0,38	0,38	0,26
Duración de la atresia folicular	3	9	13	--
Tasa de atresia	0,333	0,211	0,146	--

Según el número de ondas (considerando los ciclos de 1, 2, 3 y 4 ondas), se notaron diferencias significativas con respecto al día de máximo tamaño del 1º y 2º folículo dominante ($p < 0,01$). También fueron patentes las diferencias en la tasa de atresia ($p < 0,05$), experimentadas por el 2º folículo dominante. Se observó que existía significación respecto al día en que se alcanzaba el tamaño máximo en cada una de las ondas ($p < 0,001$). En los ciclos con 3 ondas foliculares, el 1º FD (no ovulatorio) adquiría un tamaño significativamente superior al del siguiente ciclo, mientras que cuando había 2 ondas dicho folículo se mostraba inferior al siguiente (en cuyo caso, ya era ovulatorio).

Cuando se compararon los ciclos con 2 o 3 ondas foliculares, apreciamos que el 1º FD alcanzaba un tamaño similar en ambos casos ($1,69 \pm 0,35$ vs. $1,70 \pm 0,13$ cm.), pero en menos tiempo en aquellas vacas con más ondas (8,0 vs. 11,0 días).

Al estudiar el folículo ovulatorio formado al final del ciclo estral, se detectó que emergía más tarde en vacas con ciclos de 3 ondas foliculares (día 15,0 vs. día 11,62) y el tamaño ovulatorio era menor, al compararlo con ciclos de 2 ondas foliculares ($1,25 \pm 0,48$ vs. $1,71 \pm 0,19$ cm.).

La edad media en las vacas que presentaban ciclos estrales con 2 ondas foliculares fue inferior ($4,38 \pm 1,66$ años) a las que tuvieron 3 ondas ($7,0 \pm 2,64$ años) ($p < 0,05$).

El ciclo estral fue mucho más corto en la vaca con una sola onda folicular (19 ± 0 días) que en las que presentaba 2, 3 o 4 ($22,3 \pm 1,89$, $23,0 \pm 2,0$ y 27 ± 0 días, respectivamente), pero no se apreció significación positiva.

Figura 1.- Concentraciones plasmáticas medias de progesterona en vacas con una (n=1), dos (n=16), tres (n=3) y cuatro (n=1) ondas foliculares.

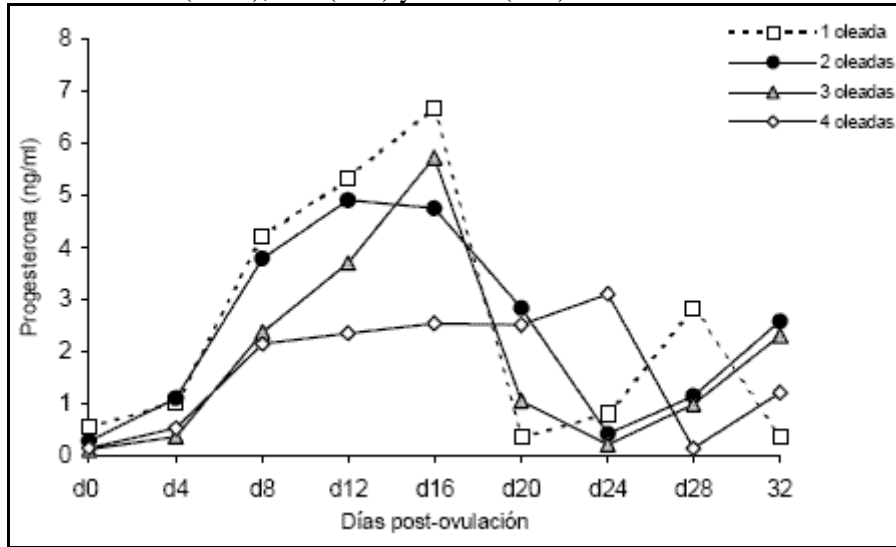
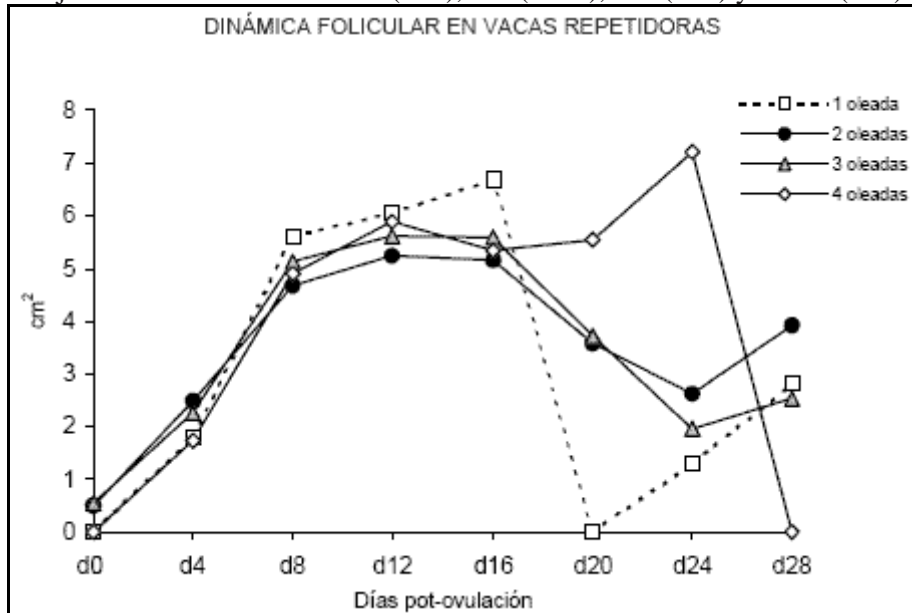
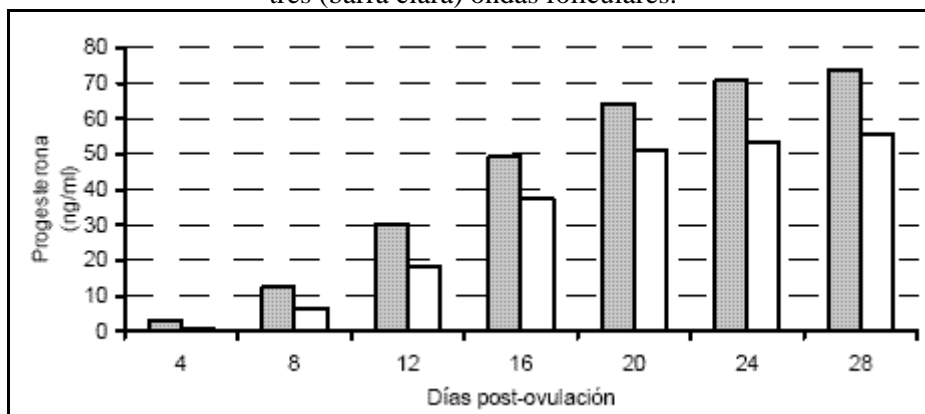


Figura 2.- Área de tejido luteal en vacas con una (n=1), dos (n=16), tres (n=3) y cuatro (n=1) ondas foliculares.



No se encontraron diferencias significativas entre vacas con 2 o 3 ondas foliculares con respecto a los niveles de progesterona plasmática diaria (figura 1), ni en cuanto al tejido luteal total (figura 2); sin embargo, desde el día 8 del ciclo hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ambos patrones en cuanto al área bajo la curva de progesterona (figura 3).

Figura 3.- Área bajo la curva de progesterona en vacas con dos (barra oscura) y tres (barra clara) ondas foliculares.



DISCUSIÓN

En RBC, Taponen et al. (1999) y Dowenski et al. (2000) describieron diámetros foliculares ligeramente inferiores a los observados en este estudio (1,69 cm. y 1,581,67 cm., respectivamente).

De acuerdo con estos resultados, es posible afirmar que el tamaño ovulatorio observado en vacas RBC es muy variable, ya que mientras algunas vacas presentan tamaños excesivos (2,5 cm.), en otras éstos eran relativamente pequeños (1,2 cm.).

Estudios recientes confirman que un incremento de FSH plasmático precede a cada onda de crecimiento folicular en ganado vacuno y puede determinar su inicio (Adams, 1999), mientras que su descenso (coinciden te con un aumento de secreción de inhibina y estradiol desde el FD) se asocia con regresión rápida de folículos no dominantes. La FSH juega un papel crítico en el desarrollo continuado del FD, y es posible que la inhibina y otros factores del líquido folicular actúen directamente sobre él (Law et al., 1992).

El presente trabajo muestra que en las RBC estudiadas predominan los patrones de 2 ondas foliculares (72,2 p.100) frente los de 3 (16,6 p.100). Durante el ciclo estral, se observó que el tamaño del folículo ovulatorio formado el día 0 de la experiencia mostraba interacción con el número de ondas foliculares que aparecían tras la ovulación: cuando el diámetro era menor, el ciclo presentaba más ondas. Son muchas las conjeturas que se pueden hacer a este respecto relativas a la liberación de estradiol y adaptación del animal al nivel de esteroide presente, cantidad de FSH liberada, CL formado, etc., pero no existe una causa clara y demostrada que explique estas observaciones.

El análisis estadístico reveló diferencias respecto al día en que se alcanza el máximo tamaño en cada una de las ondas. En la vaca que presentó un único folículo durante el ciclo estral, dominante y ovulatorio a la vez, éste alcanzó un tamaño máximo el día 19, al igual que habían observado Savio et al. (1988), dando lugar a un ciclo estral de corta duración. En las vacas de 2 ondas foliculares, los tamaños foliculares máximos se alcanzaron en torno a los días 11 y 22 respectivamente, similar a lo observado por Ginther et al. (1989a). En aquellos animales con 3 ondas, los tamaños máximos se alcanzaron los días 8, 14 y 23. Y por último, en la vaca que presentó 4 ondas foliculares, los folículos dominantes alcanzaron su máximo tamaño los días 4, 16, 20 y 27.

En vacas que presentaron ciclos con 3 ondas foliculares se pudo observar que el 1° FD adquiría un tamaño significativamente superior al de la siguiente onda, posiblemente como consecuencia de la onda de FSH que se produce tras la ovulación (Ginther et al., 1989b; Mihm et al., 1996). Sin embargo, en vacas con 2 ondas esto no fue así, quizás porque el carácter ovulatorio del 2° FD hace que el estímulo para crecer sea superior. El 1° FD de las vacas con 3 ondas alcanzó un tamaño medio similar al de las vacas con 2 ondas, de acuerdo con las observaciones realizadas por Ginther et al. (1989b) y diferente a lo descrito por Fortune (1993); pero necesitará menos tiempo, lo que soporta la idea de que estas últimas vacas (con 3 ondas) reciben un estímulo adicional para el crecimiento folicular (Ahmad et al., 1997), que quizás se pueda explicar a través del mencionado aumento de FSH o de estradiol, o descenso de inhibina. Real mente, el papel fisiológico de los folículos dominantes no ovulatorios que se suceden durante los ciclos estrales o la gestación se desconoce, y se hipotetiza sobre su posible participación en la regresión luteal (Fricke, 1999).

Se ha demostrado que estos folículos tienen capacidad ovulatoria cuando son estimulados con hCG (Fricke et al., 1993). La ausencia de folículos dominantes durante la fase luteal media o tardía retrasa la regresión luteal, ya que la liberación de estradiol desde estos folículos favorece dicha atresia al desencadenar la secreción de PGF2a desde el útero o el ovario. Los folículos dominantes anovulatorios (presentes en la fase luteal) no consiguen ovular por el efecto negativo que ejerce el CL presente, que libera progesterona, impidiendo la liberación de LH en un patrón más frecuente. Dicho patrón es necesario para estimular la síntesis de más estradiol folicular y conseguir un pico de LH, indispensable para la ovulación. El desarrollo periódico de ondas continuó hasta que el CL regresó, y de esta manera se propone que es más probable que se produzca un ciclo de 3 ondas cuando la vida media del CL es más prolongada. No se debe olvidar que la dinámica de crecimiento del FD depende muy estrechamente de los niveles periféricos de progesterona, como demuestran los resultados obtenidos tras la aplicación de implantes subcutáneos o CIDR (Stock y Fortune, 1993), condicionando la duración del ciclo estral y pudiendo estimular la formación de folículos persistentes cuando su concentración es suprabasal. La mayor duración de los ciclos con 3 ondas foliculares podría deberse a que el 2° FD se retrasa y está en crecimiento cuando el útero es sensible al estradiol, y, por otro lado, la concentración sérica de estradiol en el 2° FD, así como el momento en que se libera, puede ser insuficiente para desencadenar la cascada luteolítica (Salfen et al., 1999). Fortune (1993) afirma que tanto la longitud del ciclo como de la fase luteal son factores que influyen en el número de ondas por ciclo.

Nuestros resultados muestran que las vacas con 2 ondas secretan mayores concentraciones de progesterona (figura 3), y el periodo de crecimiento y tamaño del folículo ovulatorio son igualmente superiores (Ginther et al., 1989b; Ahmad et al., 1997), lo que podría comprometer la viabilidad del oocito, como ocurre en casos de folículos persistentes. Sin embargo, Adams (1992) afirma que vacas que tienen alta concentración de esta hormona durante la fase luteal temprana o media tiene tendencia a desarrollar 3 ondas foliculares.

En relación a la edad de la vaca, Fortune (1993) indica la ausencia de bibliografía que explique su relación con el número de ondas foliculares en un ciclo estral. Como posible explicación de los resultados obtenidos podríamos considerar que una mayor edad repercute negativamente sobre la funcionalidad del eje hipotálamo hipofisario-ovario y, a su vez, sobre la síntesis y liberación de diferentes hormonas y factores ováricos.

Igualmente, en vacas viejas pueden aparecer con mayor frecuencia defectos metabólicos que eviten el crecimiento definitivo de los folículos a través de un efecto de retroalimentación negativa del estradiol sobre hipotálamo para reducir los pulsos de GnRH (Wiltbank, 1999), reduciendo los pulsos de gonadotropinas (reduce el número de folículos dominantes) y promoviendo el desarrollo de ciclos con mayor número de ondas.

Por primera vez se ha estudiado un grupo de RBC durante sus ciclos espontáneos (sin tratamiento hormonal), demostrándose que los ciclos con dos ondas foliculares son los que con mayor frecuencia aparecen, lo que podría suponer una interesante aportación para comprender mejor la dinámica folicular en las vacas que sufren este síndrome.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, G.P., R.L. Matteri, J.P. Kastelic, J.C.H. Ko and O.J. Ginther. 1992: Association between surges of folliclestimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J. Reprod. Fertil.*, 94: 177188.
- Adams, G.P. 1999. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J. Reprod. Fertil.*, 54: 1732.
- Ahmad, N., E.C. Townsend, R.A. Dailey and E.K. Inskeep. 1997. Relationships of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three follicular waves of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cows and heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 49: 1328.
- Bruyas, J.F., F. Fieni and D. Tainturier. 1993. Le syndrome "repeatbreeding": analyse bibliographique 1^o partie: Étiologie. *Revue med. vet.*, 144: 385398.
- Carrière, P.D., D. Harvey, B. Lee and C.A. Price. 1994. Croissance folliculaire et ovulations spontanées chez deux vaches présentant des structures ovariennes kystiques. *Le Médecin Vétérinaire du Québec*.
- Carrière, P.D., D. Amaya and B. Lee. 1995. Ultrasonography and endocrinology of ovarian dysfunctions induced in heifers with estradiol valerate. *Theriogenology*, 43: 10611076.
- Donaldson, L. and W. Hansel. 1968. Cystic corpora lutea and normal and cystic Graafian follicles in the cow. *Aust. Vet. J.*, 44: 304308.
- Dovensky, T., P. Trojancanec, Lj. Kocosky, K. Popovsky, G. Mickousky, V. Petkov and Lj. Mickov. 2000. Ultrasonography of the ovaries during oestrous and the subsequent oestrous cycle in repeat breeder dairy cows. 14th International Cong. on Anim. Reprod., Stockholm, Sweden 1:12 (Vol 1), p 18.
- Dufour, J., H.L. Whitmore, O.J. Ginther and L.E. Casida. 1972. Identification of the ovulating follicle by its size on different days of the estrous cycle in heifers. *J. Anim. Sci.*
- Evans, A.C.O., G.P. Adams and N.C. Rawlings. 1994. Follicular and hormonal development in prepuberal heifers from 2 to 36 weeks of age. *J. Reprod. Fert.*, 102: 463470.
- Fortune, J.E. 1993. Follicular dynamics during the bovine estrous cycle: a limiting factor in improvement of fertility?. *Anim. Reprod. Sci.*,
- Fricke, P.M., L.P. Reynolds and D.A. Redmer. 1993. Effects of human chorionic gonadotropin administered early in the estrus cycle on ovulation and subsequent luteal function in cows. *J. Anim. Sci.*, 71: 12421246.
- Fricke, P.M. 1999. Development and use of synchronization of ovulation for reproductive management of lactating dairy cows. II Congr. Ibérico Reprod. Anim., Lugo (Spain).
- Ginther, O.J., J.P. Kastelic and L. Knopf. 1989a. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci.*, 20: 187200.
- Ginther, O.J., L. Knopf and J.P. Kastelic. 1989b. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycle with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fert.*
- Ginther, O.J., L. Knopf and J.P. Kastelic. 1989c. Ovarian follicular dynamics in heifers during early pregnancy. *Biol. Reprod.*, 41: 247254.
- Ginther, O.J., K. Kot, L.J. Kulick, S. Martin and M.C. Wiltbank. 1996. Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle. *J. Reprod. Fertil.*, 108: 271279.
- Ireland, J.J. and J.F. Roche. 1983. Development of nonovulatory antral follicles in heifers: changes in steroids in follicular fluids and receptors for gonadotropins. *Endocrinology*.
- Lafi, S.Q. and J.B. Kaneene. 1988. Risk factors and associated economic effects of the repeat breeder syndrome in dairy cattle. *Vet. Bull.*, 58: 891903.
- Law, A.S., G. Baxter, D.N. Logue, T. O'Shea and R. Webb. 1992. Evidence for the action of bovine follicular fluid factor(s) other than inhibin in suppressing follicular development and delaying oestrus in heifers. *J. Reprod. Fertil.*, 96: 603616.
- McDougall, S., C.R. Burke, K.L. Macmillan and N.B. Williamson. 1995. Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasturefed dairy cows after calving. *Res. Vet. Sci.*
- Mihm, M., M.G. Diskin and J.F. Roche. 1996. Regulation of follicle wave growth in cattle. *Reprod. Dom. Anim.*, 31: 531538.
- Pérez, C.C. 2001. Seguimiento hormonal e imágenes ecográficas de la patología ovárica en vacas repetidoras de aptitud láctea. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, España, 2001.
- Pierson, R.A. and O.J. Ginther. 1986. Ovarian follicular populations during early pregnancy. *Theriogenology*, 26: 649659.

- Pierson, R.A. and O.J. Ginther. 1988. Follicular populations during the estrous cycle in heifers: III time of selection of the ovulatory follicle. *Anim. Reprod. Sci.*, 16: 8195.
- Rajakoski, E. 1960. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical and leftright variations. *Acta Endocrinol*, 34: 164.
- Roche, J.F. and M.P. Boland. 1991. Turnover of dominant follicles in cattle of different reproductive status. *Theriogenology*.
- Salfen, B.E., J.R. Cresswell, Z.Z. Xu, B. Bao and H.A. Garverick. 1999. Effects of the presence of a dominant follicle and exogenous oestradiol on the duration of the luteal phase of the bovine oestrous cycle. *J. Reprod. Fert.*
- Savio, J.D., L. Keenan, M.P. Boland and J.F. Roche. 1988. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fertil.*, 83: 663671.
- Savio, J.D., M.P. Boland and J.P. Roche. 1990. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fertil.*, 88: 581591.
- Sirois, J. and J.E. Fortune. 1988. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by ultrasonography. *Biol. Reprod.*
- Sirois, J. and J.E. Fortune. 1990. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology*.
- Spicer, L.J. and S.E. Echternkamp. 1986. Ovarian follicular growth, function and turnover in cattle: a review. *J. Anim. Sci.*, 62: 428451.
- Stock, A.E. and J.E. Fortune. 1993. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology*.
- Sunderland, S.J., M.A. Crowe, M.P. Boland, J.F. Roche and J.J. Ireland. 1994. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fertil.*
- Taponen, J., T. Katila and H. RodríguezMartínez. 1999. Induction of ovulation with gonadotropin releasing hormone during proestrus in cattle: influence on subsequent follicular growth and luteal function. *Anim. Reprod. Sci.*, 55: 91.
- Taya, K., H. Kaneko, T. Takedomi, H. Kishi and G. Watanabe. 1996. Role of inhibin in the regulation of FSH secretion and folliculogenesis in cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 42: 563570.
- Thatcher, W.W., M.A. Driancourt, M. Terqui and L. Badinga. 1991. Dynamics of ovarian follicular development in cattle following hysterectomy and during early pregnancy. *Dom. Anim. Endocrinol.*, 8: 223234.
- Wiltbank, M.C. 1999. Mejora de la eficacia reproductora del ganado bovino lechero de alta producción. 3ª jornadas ANEMBE Medic. Bov., León (Spain), p. 109128.
-