

IMPACTO DE LA UTILIZACIÓN DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL CON DETECCIÓN DE CELO E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TÉRMINO FIJO EN VACAS MESTIZAS MANEJADAS BAJO EL SISTEMA DOBLE PROPÓSITO

Impact of the use of Artificial Insemination With Detection of Estrus and Fixed Time Artificial Insemination in Crossbred Cows Managed Under the Dual Purpose System

Roger Salgado-Otero¹, María Vergara-Avilez¹ y Oscar Vergara-Garay^{2*}

¹Grupo de Investigación en Reproducción y Biotecnología de la Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Córdoba. Montería, Córdoba. Colombia. ²Grupo de Investigación en Producción Animal Tropical, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Córdoba. Montería, Córdoba. Colombia. overgara@correo.unicordoba.edu.co

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el uso de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) sobre el desempeño reproductivo de vacas mestizas manejadas bajo el sistema doble propósito (DP). Se utilizaron 385 vacas mestizas (*Bos indicus* x *Bos taurus*) entre 60 y 90 días posparto, las cuales fueron asignadas al azar a dos grupos: el grupo 1 (n = 197) inseminadas a celo detectado y el grupo 2 (n = 188) sincronizadas por protocolo hormonal e IATF. Los datos obtenidos fueron analizados por medio de estadística descriptiva e intervalos de confianza. Se encontró que del total de 385 animales en estudio, el 51,16% fueron detectados en celo obteniéndose una tasa de concepción del 73,6% y una tasa preñez de 37,65%. Las vacas sometidas a protocolos de IATF obtuvieron una tasa de preñez del 65,96% y del total de animales, el 9,09% quedaron vacías. Con respecto a la eficiencia reproductiva, el 69,87% de las vacas del estudio fueron preñadas tras la primera inseminación y se obtuvo una preñez total del 90,91% al usar biotecnologías reproductivas. Se concluye que el uso de IATF en vacas mestizas DP constituye una buena estrategia para mejorar la fertilidad.

Palabras clave: Eficiencia reproductiva, inseminación artificial, tasa de preñez.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the use of fixed-time artificial insemination (FTAI) on the reproductive performance of crossbred cows managed under the dual purpose system (DP). A total of 385 crossbred cows (*Bos indicus* x *Bos taurus*) between 60 and 90 days postpartum were used, they were randomly assigned to two groups: group 1 (n = 197) inseminated at detected estrus and group 2 (n = 188) synchronized with hormonal protocol and inseminated at fixed-time (FTAI). The data obtained were analyzed using descriptive statistics and confidence intervals. From all of 385 animals in the study, 51.16% were detected in estrus, resulting in a conception rate of 73.6% and a pregnancy rate of 37.65%. Cows subjected to FTAI protocols obtained a pregnancy rate of 65.96 and 9.09% were empty. With regard to reproductive efficiency, 69.87% of the cows in the study were pregnant after the first insemination and a total of 90.91% got pregnant when using reproductive biotechnologies. It was demonstrated that the use of FTAI in crossbred DP cows is an efficient strategy to improve fertility.

Key words: Artificial insemination, reproductive efficiency, pregnancy rate.

INTRODUCCIÓN

Cuando una hembra bovina (*Bos taurus* - *Bos indicus*) es manejada en condiciones ideales, tiene el potencial para producir un ternero/año, para lo cual las vacas tienen que concebir dentro de los 75 a 85 días (d) después del parto [31].

Sin embargo, en Colombia, específicamente en la región Caribe, el ganado bovino manejado bajo el sistema doble propósito (DP) presenta alta incidencia de anestro posparto, lo cual incrementa el intervalo parto-concepción y afecta negativamente la eficiencia reproductiva (ER) [7, 16]. En este sentido, Bo y Cutaia [7] y Ruiz y Olivera [24] coinciden en decir que vacas lactantes *Bos indicus* explotadas en pastoreo en Colombia presentan la reactivación ovárica entre 217 a 220 d después del parto, resultando en intervalos entre partos de 17 a 20 meses (mes) [7, 23]. Esto demuestra que el anestro es uno de los principales factores que afectan la productividad del ganado en las regiones tropicales.

La inseminación artificial (IA) es una herramienta biotecnológica que favorece la mejora genética y las ganancias económicas a través del uso de toros de alto valor genético. Sin embargo, su implementación en programas a celo detectado presenta limitaciones por fallas en su detección, anestro posparto, pastoreo extensivo, gran número de animales por lote, recurso humano mal capacitado y el costo de la tecnología [8]. Como alternativa, el uso de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) permite servir a las vacas poco después del periodo de espera voluntario, independientemente del estado de ciclicidad en que se encuentren, aumentando la tasa de servicio [4, 22]. En este sentido, las técnicas hormonales usadas para acelerar la presentación de la ciclicidad ovárica durante el posparto pueden tener un gran impacto en la producción bovina [3]. El objetivo del presente estudio fue evaluar y comparar los resultados de la utilización de IA y IATF sobre el desempeño reproductivo en vacas mestizas manejadas bajo el sistema DP.

MATERIALES Y MÉTODOS

Manejo reproductivo general de vacas mestizas manejadas bajo el sistema DP después del periodo de espera voluntario

Este experimento fue realizado en una finca comercial dedicada a la explotación de ganado bovino manejado bajo el sistema DP, ubicada en el municipio de Cereté (Córdoba), Colombia, durante el año 2011 por un periodo de 4 meses, en la estación lluviosa del año. El municipio de Cereté se encuentra localizado a 8° 45 LN y 75° 22' LO, con una altura de 15 msnm, precipitación media anual de 1.100 mm, temperatura media anual de 27,5°C, humedad relativa de 85% y se clasifica como bosque seco tropical [17].

Se utilizaron 385 vacas mestizas (*Bos indicus x Bos taurus*) lactantes entre 60 y 90 d posparto, con una condición corporal (CC) de 2,5 a 3,5 evaluada en una escala de 1 a 5, las vacas fueron manejadas en pastoreo rotacional en praderas de Angleton (*Dychantium aristatum*), suplementadas con 1 kg de un concentrado comercial, 4 kg de ensilaje de maíz (*Zea mays*) sal mineralizada y suministro de agua permanente. Las vacas después de 60 d posparto fueron examinadas por palpación rectal para determinar el estado reproductivo. Solo fueron

utilizados animales que se encontraban clínicamente sanos, y que al diagnóstico reproductivo no presentaban ninguna patología. Los animales seleccionados recibieron el siguiente tratamiento: día cero: aplicación de un antihelmíntico, modificador orgánico y vitamina A y E; día dieciocho: aplicación de una segunda dosis de antihelmíntico, más tres dosis diarias de un suplemento mineral inyectable.

De un total de 385 vacas mestizas lactantes manejadas bajo el sistema DP entre 60 a 90 d posparto, a 197 se les detectó celo y fueron sometidas a inseminación artificial (IA, Grupo 1) y las 188 restantes que no presentaron celo se sometieron a inseminación artificial a tiempo fijo (IATF, Grupo 2). Las vacas del grupo IA fueron observadas dos veces diariamente para la detección del celo durante los primeros 30 d con la ayuda de toros marcadores y la inseminación fue realizada después que la vaca rechazara al calentador. Las vacas del grupo IATF fueron sometidas al siguiente protocolo: Día cero: aplicación de un implante auricular (3 mg de norgestomet), más 3 mg de norgestomet IM, y 5 mg de valerato de estradiol (Crestar, Intervet-Schering Plough, Boxmeer, Países Bajos). Día nueve: retiro del implante auricular más la aplicación IM de 0,15 mg de (D+) cloprostenol (cloprostenol, Syntex S.A, Argentina) y 400 UI de gonadotropina coriónica equina (Novormon, Syntex S.A, Argentina) IM. D diez: aplicación de 1 mg de benzoato de estradiol (Benzoato de estradiol, Syntex S.A, Argentina.) IM. Día once: IATF 30-36 h después de la aplicación del benzoato de estradiol, seguido por IA a celo detectado hasta los 120 d.

Diagnóstico de preñez y eficiencia reproductiva

En ambos grupos, las vacas fueron examinadas para el diagnóstico de preñez mediante ultrasonografía transrectal con la ayuda de un ecógrafo dotado de un transductor lineal de 5 Mhz (ALOKA, SSD 500, Japón) 30 d después de IA o IATF. La preñez fue confirmada al observar los latidos del corazón en el embrión. La duración de la preñez fue estimada por el tamaño de la longitud de la vesícula amniótica basada en la evaluación ultrasonográfica.

La tasa de preñez por IA (P/IA) fue calculada al multiplicar la tasa de detección de celo (TDC) por la tasa de concepción (TC), según la fórmula:

$$P/IA = TDC \times TC$$

La tasa de detección de celos fue calculada como el número de vacas detectadas en celo del total de animales, según la siguiente fórmula:

$$TDC = \frac{\# \text{vacas detectadas en celo}}{\text{Total vacas}} \times 100\%$$

La tasa de concepción fue calculada como el número de vacas preñadas 30 d después de la IA, dividido por el nú-

mero total de vacas inseminadas por 100%, según la siguiente fórmula:

$$TC = \frac{\# \text{vacas preñadas (30 días posterior a IA)}}{\text{Total vacas inseminadas}} \times 100\%$$

La preñez por IATF (P/IATF) fue calculada como el número de vacas preñadas 30 d después de la IATF, dividido por el número total de vacas inseminadas, de acuerdo a la expresión:

$$P/IATF = \frac{\# \text{vacas preñadas (30 días posterior a IATF)}}{\text{Total vacas inseminadas}} \times 100\%$$

La preñez al finalizar el estudio (preñez total) fue calculada como el número de vacas preñadas, dividido por el número total de vacas utilizadas, según la fórmula:

$$P/IATF = \frac{\# \text{vacas preñadas (30 días posterior a IATF)}}{\text{Total vacas inseminadas}} \times 100\%$$

Análisis estadísticos

Los datos del presente estudio fueron analizados por medio de frecuencias e intervalos de confianza (IC) para la proporción de una población, con una confiabilidad del 95%, utilizando el programa estadístico SAS 9.0 [30].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados mostrados en la TABLA I corresponden a preñeces obtenidas por IA a celo detectado. Se observó que de un total de 385 animales en estudio, el 51,17% fueron detectados en estro, con un intervalo de confianza entre 46,18 a 56,16%. Se obtuvo una tasa de concepción del 73,6%, con un intervalo de confianza entre 67,93 a 79,27% y una tasa de preñez del 37,66%, con un intervalo de confianza entre 32,82 a 42,5%. Estos resultados fueron satisfactorios y coinciden con los reportados por Galina y col. [14], en ganado criado bajo condiciones tropicales, donde la eficiencia en la detección del estro estuvo en promedio en un 60%. En cuanto a la tasa de concepción, los resultados son semejantes a los obtenidos por SáFilho y col. [28] en vacas Nelore (85,0%). Por su parte, la tasa de preñez a la IA arrojó resultados inferiores a los reportados por Aguirre y col. [1] y Bo y col. [6] (45 y 40%, respectivamente).

TABLA I

TASAS DE DETECCIÓN DE CELOS, CONCEPCIÓN Y PREÑEZ A LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (IA) CON DETECCIÓN DE CELO

	Detección de celo	Tasa de concepción IA	Tasa de Preñez
n (%)	197/385 (51,17)	145/197 (73,60)	145/385 (37,66)
IC (95%)	46,18 - 56,16	67,93 - 79,27	32,82 - 42,50

Aunque los resultados obtenidos fueron coincidentes con la literatura reportada, hay que tener en cuenta que en regiones tropicales uno de los grandes problemas que se presentan en la producción de ganado bovino manejado bajo condiciones de pastoreo es la alta incidencia de anestro (> 85 d), lo que prolonga el intervalo entre partos y compromete la ER del ganado [20], aunque la IA surje como una opción aplicable para el mejoramiento reproductivo y genético en hatos, esta técnica presenta limitaciones en su aplicabilidad principalmente por fallas en la detección del celo [10, 15].

Los resultados presentados en la TABLA II corresponden a las preñeces obtenidas por IATF. Se observó que de un total de 188 vacas lactantes que fueron sometidas a un programa de IATF se obtuvo una tasa de preñez del 65,96%, con un intervalo de confianza entre 59,19 a 72,73%.

TABLA II
ASA DE PREÑEZ DE VACAS MESTIZAS SOMETIDAS A LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO (IATF)

Nº animales	Preñez a la IATF n (%)
188	124/188 (65,95)
IC (95%)	59,19 - 72,73

En la TABLA III se presenta la ER de vacas mestizas sometidas a IA, IATF, y a la segunda y tercera inseminación. El 69,87% de los 385 ejemplares quedó gestante a la primera inseminación obtenida de la IA convencional durante la etapa preparatoria más la generada por el protocolo de IATF, con un intervalo de confianza entre 65,29 a 74,45%. Las tasas de concepción a la segunda y tercera inseminación fueron del 12,47 (IC = 9,17 a 15,77%) y 8,57% (IC = 5,77 a 11,37%), respectivamente. Cabe acotar que estas inseminaciones fueron realizadas a celo detectado. La preñez total de los 385 animales sometidos a biotecnologías reproductivas (IA y IATF) fue del 90,91% con un intervalo de confianza entre 88,04 a 93,78% y solo el 9,09% quedaron vacías.

La variabilidad en respuesta a la detección de celo, tasa de concepción y tasa de preñez con IA en vacas en anestro posparto podría estar influenciada por factores como: CC, nivel de producción y época del año [11]. En tal sentido, Yavas y col. [37] sugieren que la aciclicidad en vacas lactantes se reduce tras la administración de progestágenos tres semanas después del parto, lo que induce a la ovulación y el surgimiento de un buen cuerpo lúteo.

En este orden de ideas, el conocimiento sobre la dinámica folicular [21] ha permitido el desarrollo de tratamientos hormonales capaces de regular el crecimiento de folículos y el momento de la ovulación, viabilizando la IATF [19]. En el presente estudio, la tasa de preñez a la IATF fue del 65,96% coincidiendo con lo descrito por Duffy y col. [13] y Vaca y col. [34] en vacas con cría al pie. Sin embargo, los valores obtenidos están por encima de los encontrados por SáFilho y col.

TABLA III
EFICIENCIA REPRODUCTIVA DE VACAS MESTIZAS SOMETIDAS A LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (IA) Y A UN PROTOCOLO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO (IATF)

	Preñadas a la 1 ^a IA + IATF	Preñadas a la 2 ^a IA	Preñadas a la 3 ^a IA	Preñez total	Vacas vacías
n (%)	269 (69,87)	48 (12,47)	33 (8,57)	350 (90,91)	35 (9,09)
IC (95%)	65,29 - 74,45	9,17 - 15,77	5,77 - 11,37	88,04 - 93,78	6,22 - 11,96

[25], en vacas *Bos indicus* tipo carne (53,3%), Venturini y col. [35] en vacas DP (56%) y Callejas y col. [9] en vacas cebuinas posparto (46,2%), al recibir tratamiento con progesterona (P4) y servicio natural.

Por otra parte, el uso de eCG en el protocolo pudo favorecer los resultados (tasa de preñez 65,96%), en tal sentido Barusselli y col. [3] y SáFilho y col. [26] señalan que esta hormona ha mejorado las tasas de desarrollo folicular ovárico en los programas de IATF para vacas tipo carne lactantes, especialmente en anestro posparto. Estos resultados son respaldados por Cutaia y col. [12], quienes sugieren que los tratamientos con eCG incrementan los porcentajes de preñez en vacas lactantes con alta incidencia de anestro, por tal motivo, SáFilho y col. [24] reportaron tasas de preñez en vacas cebuinas del 48,3%.

Con relación al uso de implantes auriculares + valerato de estradiol y la tasa de preñez en vacas DP en posparto, Bó y col. [5] indican que la sincronización del celo con implantes a base de P4 disminuye el intervalo desde el parto al primer celo en $145,2 \pm 8,5$ d, sin comprometer las tasas de concepción (67,7%) en vacas primíparas mestizas *Bos indicus x Bos taurus*.

La tasa de preñez con IATF obtenidas en este estudio superan las encontradas por SáFilho y col. [27] y Tenhagen y col. [33], al usar protocolos a base de benzoato de estradiol y hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), quienes reportaron tasa de preñez del 52,6% y una variabilidad de 30 a 50%, respectivamente, tales diferencias pueden deberse a las condiciones de manejo de los animales, ya que en el presente estudio las vacas mestizas fueron preparadas antes de iniciar con el tratamiento hormonal. En el presente estudio no se evaluó el efecto de los minerales; sin embargo, la inclusión de ellos en la etapa preparatoria se hizo de acuerdo a resultados publicados por varios autores [2, 29, 36], quienes comunicaron que la suplementación con Cu, Zn, Mn, Co reduce los d abiertos y tienden a mejorar tanto las tasas de concepción al primer servicio así como también las tasas de preñez a los 150 d posparto. Otra consideración a tener en cuenta sería la variabilidad tras el uso de GnRH. Baruselli y col. [3] indicaron que su uso como inductor de ovulación presenta baja eficiencia en hembras *Bos indicus*, principalmente en anestro.

Finalmente y haciendo énfasis en la eficiencia reproductiva, en este estudio se obtuvo una tasa de preñez total del 90,91%, dato que concuerdan con el estimado por Zarate y col. [38], quienes señalan que la sincronización de estro en vacas criollas posparto mejora su ER. Del mismo modo, Soto y

col. [32] afirmaron que la ER mejoró en vacas Angus 69 d posparto sincronizadas con implante Crestar y Valerato de Estradiol.

Por su parte, Marques y col. [18] indicaron que la aplicación de 400 UI de eCG en el momento de extracción del dispositivo mejora la ER al aumentar los porcentajes de preñez en vacas cebuinas de 60 a 90 d posparto. SáFilho y col. [28] señalan que la incorporación de programas de IATF en época reproductiva temprana incrementó el rendimiento reproductivo de vacas de carne lactantes.

CONCLUSIÓN

Se concluye que con el uso de biotecnologías reproductivas en vacas mestizas DP manejadas en trópico bajo, es posible para mejorar la ER.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AGUIRRE, G.; PARDO, C.; GÓNGORA, A. Inicio del celo, tasa de gestación y relación dell tiempo de inseminación con los niveles de progesterona en vacas Brahman. **Rev. MVZ Córdoba.** 11(1): 766-772. 2006.
- [2] BALLANTINE, H. T.; SOCHA, M. T.; TOMLINSON, D. J.; JOHONSON, A. B.; FIELDING, A. S.; SHEARE, J. K.; VAM ASTEL, S. R. Effects of feeding complexed, Zn, manganese, cooper and cobalt to late gestation and lactating dairy cow on claw integrity, reproduction and lactation performance. **Prof. Anim. Sci.** 18: 211-218. 2002.
- [3] BARUSELLI, P.; REIS, E.; MARQUES, M.; NASSER, L.; BO, G. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Anim. Reprod. Sci.** 82-83: 479-486. 2004.
- [4] BÓ, G.; ADAMS, G.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.; PIERSON, R.; MAPLETOFT, R. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestagen and estradiol in cattle. **Anim. Reprod. Sci.** 39:193-204. 1995
- [5] BÓ, G.; BARUSELLI, P. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en el ganado bovino en regiones subtropicales y tropicales. 2002. III Curso Internacional de Ganadería de Doble Propósito, Valera, Venezuela.

- 10/26-22. 2002. En línea: http://www.avpa.ula.ve/congresos/cd_xi_congreso/pdf/gabrielbo.PDF. 19/05/2014.
- [6] BÓ, G.; BARUSELLI, P.; MARTÍNEZ, M. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Anim. Reprod. Sci.** 78: 307-326. 2003.
- [7] BÓ, G.; CUTAIA, L. Estrategias para incrementar la preñez en vacas en anestro. 2005. En: Manual de Ganadería Doble Propósito. Instituto de Reproducción Animal y Universidad de Córdoba, Argentina. Pp. 464-470. En línea: http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion6/articulo12-s6.pdf. 06/04/2014.
- [8] BÓ, G.; CUTAIA, L.; PERES, L.; PINCINATO, D.; MARAÑA, D.; BARUSELLI, P. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. **Soc. Reprod. Fertil. Suppl** 64: 223-36. 2007.
- [9] CALLEJAS, S.; ALVAREZ, S.; ZARZASO, M.; CLEDOU, G. Uso de un dispositivo intravaginal con progesterona en vacas de cría con servicio natural. **Proc. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal**. Córdoba. 06/29-07/01. Argentina. Pp 234. 2007.
- [10] CATALANO, R.; CALLEJAS, S. Detección de celos en Bovinos. Factores que la afectan y métodos de ayuda. **Rev. Med. Vet.** 82: 17-22. 2001.
- [11] CHEBEL, R.; SANTOS, J.; REYNOLDS, J.; CERRI, R.; JUCHEM, S.; OVERTON, M. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. **Anim. Reprod. Sci.** 84: 239-255. 2004.
- [12] CUTAIA, L.; VENERANDA, G.; TRIBULO, R.; BARUSELLI, P.; BÓ, G. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos de cría: factores que lo afectan y resultados productivos. **Proc. V Simposio Internacional de Reproducción Animal**. Córdoba. 06/27-29. Argentina. Pp 119-132. 2003.
- [13] DUFFY, P.; CROWE, M.; AUSTIN, E.; MIHM, M.; BOLAND, M.; ROCHE, J. The effect of Ecg or estradiol at or after norgestomet removal on follicular dynamics, estrus and ovulation in early post – partum beef cows nursing calves. **Theriogenol.** 61(4):725-34. 2004.
- [14] GALINA, C. S.; ARTHUR, G. H. Review of cattle reproduction in the tropics. Part. 4. Oestrus cycle. **J. Anim. Breed. Abstr.** 58(8): 698-707. 1990.
- [15] GONZÁLEZ, C.; MADRID, N.; GOICOCHEA, J. Análisis de la tasa de preñez en vacas doble propósito. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XIII (6):440-447. 2003
- [16] GRAJALES, H.; HERNÁNDEZ, A.; PRIETO, E. Caracterización fisiológica del periodo postparto en cuatro grupos raciales bovinos en el trópico colombiano. **Rev. MVZ Córdoba.** 15 (1): 1916-1924. 2010.
- [17] HOLDRIDGE, L. El Diagrama de las zonas de vida. En: Ecología basada en zonas de vida, 5ta Reimp., Editorial IICA, San José, Costa Rica, Pp 13-26. 2000.
- [18] MARQUES, M.; REIS, E.; CAMPOS, F.; BARUSELLI, P. Efeitos da administração de eCG e de Benzoato de Estradiol para sincronização da ovulação em vacas zebuínas no período pós-parto. **Proc V Simposio Internacional de Reproducción Animal**. Córdoba, 06/27-29. Argentina. Pp 392. 2003.
- [19] MENEGHETTI, M.; SÁFILHO, O.; PERES, R.; LAMB, G.; VASCONCELOS, J. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenol.** 72: 179–189. 2009.
- [20] MONTIEL, F.; AHUJA, C. La condición corporal y el amamantamiento como factores que influyen en la duración del anestro posparto en el ganado: una revisión. **Anim. Reprod. Sci.** 85: 1-26. 2005.
- [21] PIERSON, R. A.; GINTHER, J. O. Follicular populations during the estrous cycle in heifers. I-Influence of day. **Anim. Reprod. Sci.** 14: 165-176. 1987.
- [22] PURSLEY, J.; MEE, M.; WILTBANK, M. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 and GnRH. **Theriogenol.** 44: 915–23. 1995.
- [23] RUIZ, Z.; OLIVERA, M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. **Anim. Reprod. Sci.** 54: 211-220. 1999.
- [24] SÁFILHO, O.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.; LAMB, G.; VASCONCELOS, J. Fixed –time artificial insemination with estradiol and progesteronw for *bosindicus*cows II: strategies and factors affecting fertility. **Theriogenol.** 72(2):210-218. 2009.
- [25] SÁFILHO, O.; DIAS, C.; LAMB, G.; VASCONCELOS, J. Progesterone-based estrous synchronization protocols in non – suckled and suckled primiparous*Bosindicusbeef* cows. **Anim. Reprod. Sci.** 119(1-2): 9-16. 2010.
- [26] SÁFILHO, M.; AYRES, H.; FERREIRA, R.; MARQUES, M.; REIS, E.; SILVA, R.; RODRIGUES, C.; MADUREIRA, E.; BÓ, G; BARUSELLI, P. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenol.** 73: 651-658. 2010.
- [27] SÁFILHO, O.; SANTOS, J.; FERREIRA, R.; SALES, J.; BARUSELLI, P. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. **Theriogenol.** 76(3): 455-463. 2011.

- [28] SÁFILHO, M.; PENTEADO, L.; REIS, E.; REIS, T.; GAL-VAO, K.; BARUSELLI, P. Timed artificial insemination early in the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows. **Theriogenol.** 79(4): 625-632. 2013.
- [29] SALES, J. N. S.; PEREIRA, R. V. V.; BICLHO, R. C.; BARUSELLI, P. S. Effect of injectable copper, selenium, zinc and manganese on the pregnancy rate of crossbred heifers (*Bos indicus* x *Bos taurus*) synchronized form timed embryo transfer. **Livest. Sci.** 142: 59-62. 2011.
- [30] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS). SAS/STAT User's Guide. Relase 9.0. USA. 2001.
- [31] STAGG, K.; DISKIN, M.; SREENAN, J.; ROCHE, J. Follicular development in long-term anoestrous suckled beef cows fed two levels of energy postpartum. **Anim. Reprod. Sci.** 38: 49-61. 1995
- [32] SOTO, E.; PORTILLO, G.; DE ONDIZ, A.; ROJAS, N.; SOTO, G.; RAMÍREZ, L.; PEREA, F. Improvement of reproductive performance in crossbred zebu anestrous primiparous cows by treatment with norgestomet implants or 96 h calf removal. **Theriogenol.** 57: 1503-1510. 2002.
- [33] TENHAGEN, B.; SURHOLT, R.; WITTKE, M.; VOGEL, M.; DRILLICH, M.; HEUWEISER, W. Use of Ovsynch in dairy herds-differences between primiparous and multiparous cows. **Anim. Reprod. Sci.** 81: 1-11. 2004
- [34] VACA, R. J. A.; PRANDO, A.; BALDO, A.; DE LA SOTA, R. L. Tasa de preñez luego de la utilización de benzoato de estradiol 24 horas antes o GnRH en el momento de la IATF en vacas multíparas para carne. **Proc. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal.** Córdoba. 06/29-07/01. Argentina. Pp 266. 2007.
- [35] VENTURINI, M. E.; LEONAHARD, O. Resultados de la utilización de diferentes protocolos de sincronización para IATF de vacas con cría al pie. **Proc. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal.** Córdoba. 06/29-07/01. Argentina. Pp 219. 2007.
- [36] WILDE, D. Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle. **Anim. Reprod. Sci.** 96: 240-249. 2006.
- [37] YAVAS, Y.; WALLON, J. S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: A review. **Theriogenol.** 54(1): 1-23. 2000.
- [38] ZARATE, J.; RAMÍREZ, J.; RODRÍGUEZ, F. Comportamiento reproductivo de vacas criollas con amamamiento restringido y sincronización del estro. **Agron. Mesoamer.** 21(1): 121-130. 2010.