



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACION DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL
A TIEMPO FIJO (48 ó 72 HORAS) DESPUES DE UN
TRATAMIENTO SINCRONIZADOR SOBRE LA TASA
FINAL DE PREÑEZ EN HEMBRAS *Bos indicus*.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
LILIANA ALONSO ALANUZA



ASESOR: MVZ PhD CARLOS S. GALINA HIDALGO

MEXICO, D. F.

2005

m. 346661



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A Dios...

... por la oportunidad que me brindó de estar en este tiempo y en este espacio.

... por los padres que me ha prestado, mi madre Bertha y mi padre Luis, por que con su cariño y ejemplo, me han enseñado a caminar y enfrenar los retos de la vida.

... por mi hermana Dulce y mi hermano Luis Alberto, con los cuales me ha permitido crecer, sin ellos mi existencia no estaría completa.

... por la abuelita que me dio, que fue y será el pilar más importante en mi vida, sin sus enseñanzas no hubiera llegado hasta este momento, gracias Higinia.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo recepcional.
NOMBRE: Liliana ALONSO
ALANUZA
FECHA: 08. AGOSTO -05
FIRMA: Liliana ALONSO

Señor,
No camines delante de mí, porque no puedo seguirte,
No camines detrás de mí, porque no puedo guiarte,
Camina a mi lado y acompaña mis pasos.

Anónimo.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Carlos Galina, por haberme dado la oportunidad de trabajar con él y apoyarme en mi formación profesional y personal.

A cada uno de los miembros de mi jurado, por haberme ayudado en la realización de la tesis.

A la Universidad Nacional Autónoma de México que al recibirme como parte de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia me brindó la dicha de ser universitario.

A todos mis compañeros de la carrera, por que con ellos aprendí lo valioso de pertenecer a esta gran facultad.

A mi gran amiga Janet, por que siempre tuvo un consejo en los momentos de desesperación.

A Diana, por su amistad incondicional y sobre todo por la paciencia que siempre me ha tenido.

Al buen Maquívar, por toda su ayuda en la realización de este trabajo, por todo el tiempo que te robe, muchas gracias “Chipotle vengador” .

Y especialmente a todos y cada unos de los animales presentes a lo largo de la carrera; sin que ellos lo supieran, fueron la base para mi desarrollo como profesionista, les pido disculpas por el daño que les cause en mi afán de aprender y principalmente le pido perdón, a todos aquellos a los que les tuve que arrebatarse la vida sin que pudieran defenderse.

CONTENIDO

	PÁGINA
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	3
III. OBJETIVOS.....	11
IV. HIPÓTESIS.....	11
V. MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
VI. RESULTADOS.....	15
VII. DISCUSIÓN.....	21
VIII. CONCLUSIONES.....	27
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	28

I. RESUMEN

Liliana Alonso Alanuza. Evaluación de la inseminación artificial a tiempo fijo (48 ó 72 horas) después de un tratamiento sincronizador sobre la tasa final de preñez en hembras *Bos indicus*. (Bajo la dirección del MVZ PhD Carlos S. Galina Hidalgo).

Se evaluó la tasa de preñez obtenida tras la sincronización con un progestágeno (CIDR) más la inyección de estrógenos y la inseminación artificial a tiempo fijo (48 ó 72 horas posteriores al retiro del implante). Se utilizaron 95 hembras (*Bos indicus*) ciclando, sincronizadas con un dispositivo liberador de progesterona (CIDR) el cual permaneció *in situ* por 9 días. Junto con la inserción del CIDR las vacas recibieron una inyección de 2 ml de benzoato de estradiol; al retiro del implante las vacas fueron observadas continuamente durante 80 horas, con la finalidad de registrar la conducta estral. Al retiro el implante, los animales se dividieron en dos grupos de 54 y 41 animales respectivamente; el primer grupo se inseminó artificialmente a las 48 horas post retiro del implante y el segundo grupo a las 72 horas. Para determinar el porcentaje de animales que ovularon por efecto del tratamiento sincronizador, se tomaron dos muestras sanguíneas por vaca con intervalo de una semana entre cada una de ellas, en estas muestras se midieron las concentraciones hormonales de progesterona por medio de Radioinmunoanálisis de fase sólida. No se encontró diferencia en la tasa de preñez entre vacas con diferente intensidad y duración del estro; sin embargo las que mostraron signos de estro tuvieron porcentajes de preñez mayor (88%) que las que fueron inseminadas sin presentar conducta estral (8%) ($P < 0.05$). El 60% de los animales mostraron conductas de celo y hubo tendencia por agruparse dentro de las 58 horas posteriores al retiro del implante. La proporción de vacas que ovularon después del tratamiento fue similar entre las que mostraron celo (93%) que en aquellos animales que

ovularon sin manifestación del estro (51%) ($P < 0.01$). Finalmente se concluye que el tiempo en el que se realizó la inseminación artificial (48 ó 72 h) en las vacas, no afectó la tasa de gestación, sin embargo, esta si se vio afectada por la presentación de conductas sexuales, en donde los animales que exhibieron estas, presentaron un mayor índice de fertilidad en comparación con las que no lo hicieron.

II. INTRODUCCIÓN

El ganado criado en condiciones tropicales presenta diversas limitantes, entre las que se encuentran el bajo rendimiento productivo, expresado por las bajas ganancias de peso y el retraso en la manifestación de eventos fisiológicos tales como la presentación de la pubertad y el reinicio de la actividad ovárica posparto (1), que finalmente se reflejan en un pobre desempeño reproductivo (2,3) situación reflejada en pérdidas económicas para los productores.

Dentro de las principales causas que provocan esta baja fertilidad esta la pobre detección del estro, teniendo que en ganado dedicado a la producción de carne donde los sistemas extensivos impiden una frecuente observación de las vacas este problema es muchos más marcado (4). Asimismo, la dificultad en detectar el estro en ganado cebuino es de naturaleza multifactorial, se encuentra relacionada principalmente con aspectos de comportamiento propios de la especie, así dependerá de la interrelación que exista entre animales dominantes y subordinados entre otros (5). Galina *et al* (6) observaron que las vacas cebú al estar en estro no permiten ser montadas repetidamente y que el mayor número de montas ocurren entre las 6 pm-9 pm. Asimismo, encontraron que el promedio de montas en el ganado Cebú es 1.6 montas/h, mientras que en la raza Charolais es de 2.1 montas/h (6). Aunado a esto, la duración promedio del estro en ganado *Bos indicus* es de 12.8 ± 2.3 h lo que aumenta el problema ya que esta serie de características limitan la probabilidad de observar un animal en estro. (7).

En adición, factores como genética, nutrición, edad y presencia del macho dentro del hato contribuyen a la eficiencia reproductiva del ganado *Bos indicus* afectándola ya sea de

manera positiva o negativa, ya que estos se interrelacionan para propiciar la manifestación de conductas sexuales o bien, inhibir estas. (8).

Por otra parte, Orihuela *et al* (9) trabajando con ganado cebuino, observado durante 100 horas después de inyección con PGF2 α únicamente pudieron detectar el 65% de los estros. De la misma forma, observaron que animales que tienen mayor jerarquía dentro del hato son los que manifiestan con mayor intensidad las conductas de celo, además de que no permiten ser montadas por vacas de menor jerarquía, por lo que estas últimas son limitadas en cuanto a la expresión de las actividades sexuales. Por lo tanto, el rango social puede influir en el tiempo de la manifestación de las conductas reproductivas y posiblemente afectar los mecanismos fisiológicos de estas (8).

Para solucionar dicha problemática se ha empleado el uso de tratamientos sincronizadores con el fin de homogenizar el período de presentación del estro dentro del hato, que a su vez, favorecen la implementación de técnicas como la Inseminación Artificial y la Transferencia de Embriones (10), las cuales llevan consigo una mejora genética del hato de forma acelerada (11,12).

Básicamente se cuenta con dos métodos para controlar el ciclo estral en el bovino, el primero es acortar la vida media del cuerpo lúteo provocando su lisis mediante la administración de sustancias lutetolíticas, principalmente la PGF2 α o sus análogos sintéticos. El segundo, es imitar la presencia de un cuerpo lúteo de vida funcional mediante la administración de progesterona o sus análogos sintéticos (13). Ambos métodos tienen la desventaja de causar variabilidad en el inicio de la manifestación de los signos de celo, ya que en el caso de la progesterona por si sola no controla el desarrollo folicular, mientras que en el caso de las prostaglandinas la homogenización en la presentación del estro depende de que los animales presenten un cuerpo lúteo de vida funcional al momento de

provocarse la luteólisis (14). Orihuela *et al* (9) observaron que solo el 60% de los animales sincronizados con PGF2 α , manifestaron conductas de celo, mientras que Porras *et al* (13) estimaron que bajo condiciones del trópico, el uso de progestágenos tanto para la inducción como para la sincronización de celos, permite alcanzar un grado de expresión de estro generalmente mayor al 80% del total de los animales tratados. En adición, una de las principales limitantes con el uso de estos fármacos sincronizadores es precisamente la falla en la detección de estros, problema que se refleja en los bajos índices de fertilidad observados en los hatos (13,14). Por lo tanto, ha sido necesario sincronizar no solo la presentación del estro por medio del uso de progestágenos y/o PGF2 α , sino también el desarrollo de la oleada folicular y con ello la ovulación mediante el uso de GnRH y/o estrógenos (15).

Con el uso de progesterona, se ha demostrado que las concentraciones plasmáticas pueden llegar a inhibir el crecimiento de folículos presentes en el ovario al momento del inicio del tratamiento, por lo que este folículo persista hasta el final del mismo, provocando que se retarde el desarrollo de una nueva oleada folicular (13). Esto representa una desventaja ya que se ha observado que cuando la dominancia del folículo ovulatorio excede de 10 días, se provocan bajos porcentajes de gestaciones (16). Para evitar la presencia de este tipo de folículos, es necesario provocar la regresión y la atresia en los que se encuentren en la fase de selección, de tal manera propiciar que todos los animales tengan un folículo en crecimiento y con capacidad de ovular un ovocito viable después de la remoción del progestágeno (16). Adicionalmente, para tener mayor precisión en el inicio del estro es necesario contar con un folículo en crecimiento al término del tratamiento, es por esto, que es necesario ser sincronizada la oleada folicular ya que esta afectará el tiempo de presentación del estro y el momento de la inseminación artificial o servicio (16).

En el caso de la aplicación de estradiol, se menciona que tiene ciertos efectos lúteolíticos, razón por la cuál la sincronización a base de progesterona puede acompañarse con esta hormona al inicio del tratamiento, para acortar la vida del cuerpo lúteo presente. En adición se ha observado que da fin a la oleada folicular existente mediante la atresia de los folículos, induciendo por lo tanto el surgimiento de una nueva oleada (16). Al respecto, recientes investigaciones han puesto de manifiesto el efecto de la administración de implantes de progesterona más la administración de estrógenos, estos trabajos han demostrado que la administración de estradiol al final del tratamiento o 48 h después del retiro del implante provoca la sincronización del estro y de la oleada folicular tanto en vacas ciclando como en anéstricas (17,18,19), originándose una nueva oleada en los 3 a 5 días posteriores a su administración (15). Asimismo, Martínez *et al* (20) evaluaron el efecto de la administración de estrógenos contra la administración de GnRH en tratamientos sincronizadores a base de progesterona (CIDR-B), encontrando que con el uso de estrógenos las tasas finales de gestación fueron superiores a las observadas con la administración de GnRH (60% vs. 51%). De acuerdo con ello, Bridges *et al.* (21) observaron que con la administración de doble dosis de benzoato de estradiol (EB) (2mg IM al colocar el implante intravaginal de progesterona y 1 mg IM al retirarlo) las tasas de preñez se situaron alrededor del 60%. Sin embargo, Díaz *et al* (10) trabajando con vacas anéstricas encontraron que la inyección de benzoato de estradiol al retirar el implante promovía la manifestación de los signos de estro conductual pero casi el 50% de los animales que manifestaban el celo no presentaban ovulación. Estos resultados fueron confirmados por Fetter (Datos no publicados (22)) y Velásquez *et al* (23), lo que sugiere que al menos en animales anéstricos el tratamiento de estrógenos al retirar el implante no es muy conveniente. Contrario a esto, Rhodes *et al* (19) mencionan que no hay diferencia

significativa en el porcentaje final de gestaciones, entre vacas que reciben la inyección de estradiol al momento de colocar el implante ó 24 horas después de retirado el mismo, independientemente del estado ovárico (anéstricas o ciclando). Así mismo Ross *et al* (24) tras comparar la administración de EB en el momento de la remoción del implante ó 24 h después de retirado, encontró que el 77.8% y el 81.8% (respectivamente) de los animales ovularon, lo que sugiere que la aplicación de benzoato de estradiol 0 ó 24 h después de retirado el implante no afecta en porcentaje de ovulación.

Martínez *et al* (25) evaluaron el efecto de la administración de GnRH y/o estradiol al inicio del tratamiento a base de acetato de melengestrol (MGA), observando que con ambas hormonas se mejoraba la tasa de gestación, lo cual se atribuye a la sincronización de la oleada folicular, así como a la disminución en la presencia de folículos persistentes, conclusión a la que también llegaron Bridges *et al* (21).

En un intento por superar las deficiencias en la detección del estro, surgió el método de sincronización con inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), en el cual no se toma como factor primordial la presentación del estro, sino que cobra especial importancia el tiempo estimado del momento de ovulación con respecto al tiempo de finalizado el tratamiento hormonal. Por lo tanto, para la aplicación de dicha técnica es necesario sincronizar no sólo el inicio de la presentación del estro y el surgimiento de una nueva oleada folicular sino también la ovulación, lo que requiere de la aplicación de hormonas como GnRH, hCG o bien LH y/o estradiol al iniciar y/o finalizar el tratamiento sincronizador (15). Para la aplicación de la IATF se debe considerar el tiempo de viabilidad tanto de los espermatozoides como del ovocito una vez realizada la inseminación. En un estudio realizado por Trimberger *et al* (26) donde la inseminación se realizaba en diferentes tiempos con respecto a la presencia del estro, se obtuvo que los mejores resultados se

encontraban en aquellos animales cuya IA se había realizado a la mitad del celo o poco antes de que este finalizará. Esto se fundamenta en el hecho de que la ovulación se manifiesta en promedio 12 horas después de finalizado el estro y en que el ovocito se encuentra en las mejores condiciones para ser fecundado durante las primeras 6 h. posteriores a la ovulación (26). Aunado a lo anterior, la viabilidad del espermatozoide dentro del aparato reproductor de la hembra bovina es de 12-24 horas posteriores a la monta o IA (26).

Recientes estudios han demostrado que los índices de fertilidad logrados con IATF no superan los alcanzados por otros protocolos de inseminación artificial cuya base es la detección del estro (27,28). Los protocolos de IATF sugieren diferentes tiempos de inseminación, basados en el efecto fisiológico que se provoca con las hormonas que intervienen en la sincronización, así, algunos autores sugieren como tiempo óptimo de IA las 48 ó 56 h posteriores una vez finalizado el tratamiento sincronizador, obteniendo porcentajes de gestación de 52% y 60% respectivamente (29,30). Contrario a esto, Stenger *et al* (31) tras sincronizar a un grupo de animales con diferentes tratamientos a base de progesterona más la administración de GnRH 12 días después de finalizado el tratamiento y PGF2 α 7 días después de la aplicación de GnRH, inseminando a un grupo 72 horas (n=108) y al otro 80 horas (n=103) después de la aplicación de la prostaglandina, obtuvieron porcentajes similares (64% y 50% respectivamente) a los señalados en la IATF 48 ó 56 horas.

Macmillan *et al* (14) observaron que el pico de LH ocurre en promedio 16h después de la aplicación de EB, mientras que la ovulación se manifiesta 40h después de esta (64h después de la remoción del CIDR) lo que significa que la IA se debería realizar a las 52h posteriores al retiro del CIDR (18-12h antes de la ovulación). Por otro lado, Cutaita *et al*

(32) observaron que los porcentajes de preñez tras la aplicación de un progestágeno más estradiol e inseminando a tiempo fijo 48 ó 54h después del retiro del implante fueron 45% y 51% respectivamente sin que hubiera diferencia estadística. Lo anterior sugiere que los resultados obtenidos tras la inseminación a tiempo fijo (IATF) 48, 52 e incluso 56h posteriores al tratamiento sincronizador son similares entre ellos. Así mismo, Peeler *et al* (33) compararon porcentajes de gestación en novillas tras IATF 48, 56 ó 72h posteriores a los tratamientos sincronizadores a base de CIDR y cipionato de estradiol (ECP) al momento de la inserción del CIDR más ECP 24h ó GnRH 48h posteriores al retiro del CIDR, concluyendo que, con el protocolo CIDR + GnRH los porcentajes de gestación son similares independientemente del tiempo de IA más no así cuando el protocolo fue CIDR + ECP en el que los mejores porcentajes de gestación ocurrieron en las hembras inseminadas en las 56 horas posteriores a la adición de estradiol.

No obstante, en el caso de ganado *Bos indicus* los tiempos de IA (48, 52, 54, 56 ó 72 h posteriores una vez finalizado el tratamiento sincronizador) no son los más indicados, si se considera el comportamiento observado en esta especie, ya que presentan características y patrones bien definidos en cuanto a la presentación del estro, así en un intento de explicar estos fenómenos se han realizado protocolos en los que se sincronizan animales de forma escalonada, de tal forma que las vacas muestren conductas sexuales en un día predeterminado, sin embargo, los animales forman grupos sexualmente activos con los que pueden adelantar, retrasar e incluso prolongar su periodo de receptividad sexual hasta 110h después del tratamiento hormonal y por ende, presentarse tiempos variables de ovulación (34,35,4). Aunado a esto se ha observado (36) que el orden social en el rebaño afecta la manifestación en la detección de celos; los rangos jerárquicos entre las vacas pueden enmascarar la manifestación de signos de estro así como su intensidad con lo cual se

pueden afectar tanto la manifestación del estro de forma natural como la sincronizada. Asimismo, Orihuela *et al* (9) sincronizando con PGF 2α sugieren que en vacas cebú una hora alterna para realizar la inseminación es dentro de las 60-70 horas posteriores a la aplicación de la hormona ya que para este momento el 60% de los animales se encuentran en estro. Aunado a esto, Tenhagen *et al* (37) tras comparar la fertilidad obtenida entre animales primíparas y múltiparas, sincronizadas mediante GnRH (tomado como día cero), PGF el día 7 y GnRH 48 h posteriores a la aplicación de PGF e inseminados a tiempo fijo 16 ó 20 h después de finalizado el tratamiento, obtuvo porcentajes de gestación de 43.5 en animales primíparas vs 23.1 en animales múltiparas, lo que sugiere que factores como la edad pueden afectar los resultados obtenidos tras IATF, lo que concuerda con lo mencionado por Orihuela (8).

III. OBJETIVOS

- Evaluar el porcentaje de preñez en animales sincronizados mediante un implante de progesterona natural (CIDR) más una inyección de benzoato de estradiol (2ml) al momento de insertar el implante e inseminados en dos diferentes tiempos fijos (48 ó 72h).
- Evaluar la relación que existe entre los animales que muestran conductas de celo, los que ovulan y finalmente con el número de animales gestantes.
- Determinar si la intensidad de las conductas de celo esta relacionado con la posibilidad que presentan los animales de quedar gestantes tras este protocolo de sincronización.

IV. HIPÓTESIS

- La inseminación artificial realizada a las 48 horas posteriores al retiro del implante de progesterona (CIDR) proporcionará mejores porcentajes de gestación en hembras *Bos indicus* que la obtenida por la inseminación realizada 72 horas después del retiro del implante.
- Los animales que muestren conductas de celo serán los que tendrán mejores porcentajes de gestación en comparación con los animales que los manifiesten dichas receptividad sexual.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

Localización

El experimento se realizó en el módulo de producción de vaquilla F1, perteneciente al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical de la UNAM, situado a 20°4' latitud Norte y 97°3' longitud Oeste. La altura con relación al nivel del mar es de 151 m. El clima está clasificado como Af (m) w'' (e) caliente y húmedo, con lluvias todo el año, sin estación seca definida. La precipitación pluvial media anual es de 1991 mm³ y la temperatura promedio anual es de 23.7°C, con un rango entre 14 y 35°C

Animales

Se utilizaron 95 hembras multíparas (*Bos indicus*) de las cuales antes del inicio del tratamiento estaban ciclando el 97%. Los animales tenían una condición corporal promedio de 3.0 de acuerdo a la escala de 1 a 5, donde 1 = vaca emaciada y 5 = vaca obesa, con un peso promedio de 398.89 kg.

Sincronización.

Los animales fueron sincronizados por medio de un implante intravaginal de progesterona natural (Eazi-breed CIDR, progesterona natural al 10% (1.9g) en silicona inerte, laboratorio InterAg, México), que permaneció *in situ* por 9 días mas la inyección intramuscular de 2 ml de benzoato de estradiol (CIDROL) al momento de la colocación del implante.

Detección de conductas de celo.

Una vez retirado el implante las vacas fueron observadas continuamente durante 80 horas, con el fin de detectar aquellas que exhibieran comportamiento sexual y registrar dichas conductas. Los estros se clasificaron, de acuerdo a la intensidad de conductas y duración

del tiempo de receptividad sexual, en cuatro categorías: 1) alta intensidad-larga duración (≥ 20 montas, ≥ 15 horas), 2) alta intensidad-corta duración (≥ 20 montas, < 15 horas) , 3) baja intensidad-larga duración (1-19 montas, ≥ 15 horas) y 4) baja intensidad-corta duración (1-19 montas, < 15 horas).

Inseminación Artificial

Los animales se dividieron en dos grupos de 54 y 41 animales respectivamente; el primer grupo fue inseminado artificialmente a las 48 horas post retiro del implante (IA48h) y el segundo grupo fue inseminado a las 72 horas posteriores a la remoción del implante (IA72h).

Evaluación reproductiva

Se tomaron 3 muestras sanguíneas de cada vaca y cuyo orden cronológico fue el siguiente: 1ª. Una semana antes de poner el implante, 2ª. Al momento de poner el implante y 3ª. 11 días posteriores al retiro del CIDR.

Estas muestras fueron analizadas por medio de Radioinmunoanálisis en fase sólida (38) con el fin de detectar valores séricos de progesterona y poder determinar si los animales que ovularon por efecto del tratamiento sincronizador, para lo cual se determinó como presencia de un cuerpo lúteo aquellas muestras en las que los niveles de progesterona fueran $> 1 \text{ ng/ml}$ y se determinó como ovulación positiva en respuesta al tratamiento sincronizador aquellos animales con dichas concentraciones de progesterona en la muestra obtenida 11 días después del retiro del CIDR.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza de las características de intensidad y duración de los signos de estro como variables dependientes o de respuesta y los grupos categorizados como las variables independientes. Cuando se observaron diferencias significativas se

procedió a realizar una prueba HSD de TUKEY con el fin de discernir cuales medias eran diferentes. Los datos de las vacas que no mostraron estro fueron excluidos del análisis de varianza por lo que se trabajó con los datos de las que mostraron actividad sexual. (39). Por otra parte se analizaron las proporciones de animales que mostraron conductas sexuales así como los porcentajes de ovulación y gestación por medio de χ^2 . (40)

VI. RESULTADOS.

El número total de gestaciones no se observó diferencia estadística entre los dos tiempo de inseminación (48 ó 72 horas) ($P>0.05$); sin embargo, fue superior (23/26) en aquellas vacas que mostraron conducta sexual durante el estro en comparación con las que no tuvieron dicha manifestación ($P<0.05$)(Cuadro 1.).

	Número de vacas	Manifestación de celo	Número de gestaciones
IA 48h	54	con celo 36	15
		sin celo 18	0
IA 72h	41	con celo 22	8
		sin celo 19	3

Cuadro 1. Distribución del total animales (n=95) de acuerdo a la manifestación o no de conductas de celo así como el número de gestaciones en base al tiempo en el que se inseminaron (48 ó 72h)

Al realizarse el análisis de la intensidad y duración del celo se observó que el total de animales que manifestaron conductas de estro fue del 61%(58/95). Asimismo, se observó que las hembras que iniciaron las actividades del estro estimularon al resto de las vacas para que se estableciera una cadena de animales en estro.

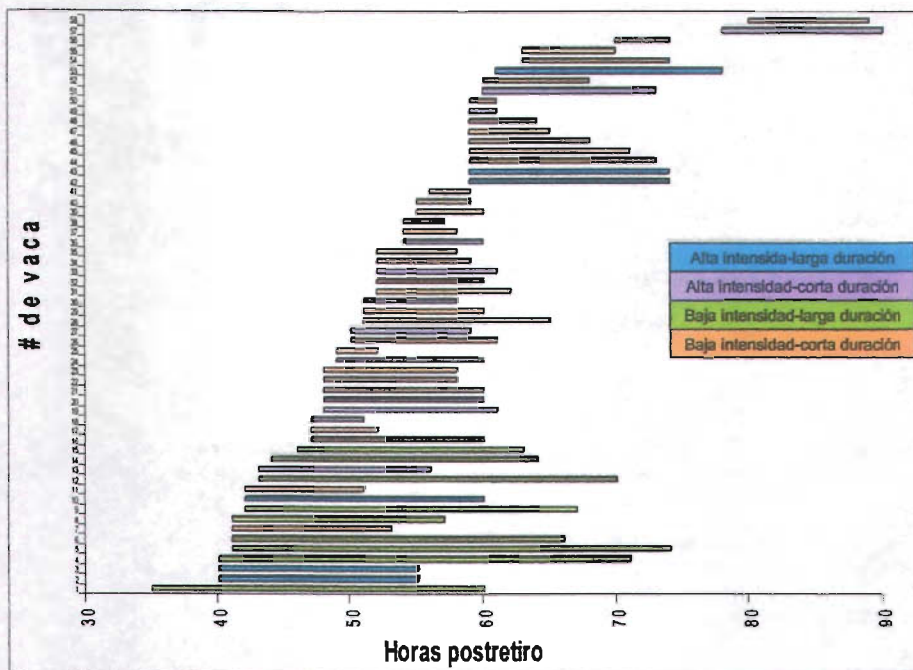


Figura 1. Formación de las cadenas de actividades sexuales de acuerdo al inicio de la presentación del celo

Se puede observar una tendencia en las hembras de baja intensidad-larga duración, en donde estas fueron las que iniciaron las cadenas de actividad sexual. Algunos de los animales que iniciaron la manifestación de estro dentro de las primeras 58 horas posteriores al retiro del CIDR alargaron el tiempo de receptividad sexual, hasta interactuar con aquellas que iniciaron el estro a las 60 horas posteriores al retiro del implante, ejemplos de este efecto son las vacas número 4 y 5, que a pesar de haber iniciado su periodo de receptividad sexual dentro de las primeras 40 horas interactuaron hasta las 80 horas con el grupo sexualmente activo que se formó en ese momento (Figura 1)

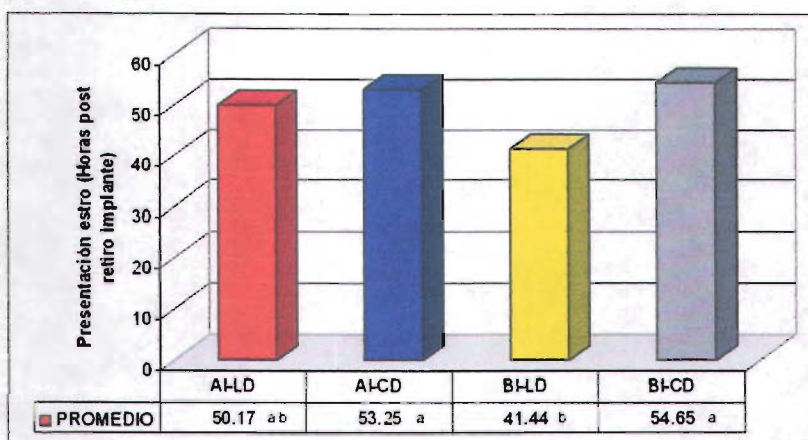
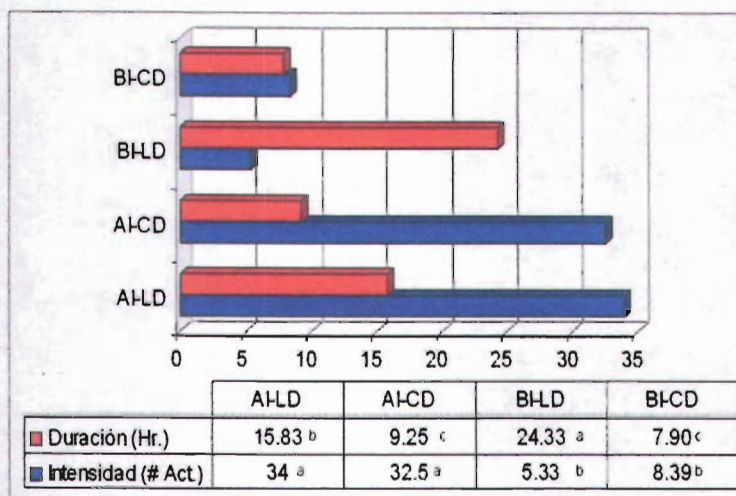


Figura 2. Tiempo promedio transcurrido entre el retiro del implante y la presentación del estro, en los diferentes grupos de animales, clasificados por la intensidad de conductas y duración del tiempo de receptividad sexual (AI: alta intensidad, BI: baja intensidad, LD: larga duración, CD: corta duración) Literales diferentes difieren $P < 0.05$

La Figura 2 contiene el tiempo promedio transcurrido entre el retiro del implante y la presentación del estro, observándose que los grupos de larga duración inician la presentación de los signos de la actividad sexual de una forma más rápida; sin embargo, solamente el grupo de animales de baja intensidad-larga duración es significativamente diferente ($P < 0.05$) al compararlo con los animales de estros de corta duración, ya que estos últimos independientemente de la intensidad con la que expresen el celo, son los que más tardaron en presentarlo.

La prueba de Análisis de varianza de una sola dirección mostró diferencias entre los promedios de los grupos con respecto a la intensidad de los signos de estro y a la duración de los signos medida en horas, por lo que se procedió a la comparación de medias por medio de la prueba HSD de Tukey. Se pudo observar que la duración del periodo de

receptividad sexual de los animales no determinó la intensidad en la manifestación de dichas conductas (Figura 3).



**Figura 3. Valores promedio de duración e intensidad de los signos de estro de acuerdo a la clasificación de los animales
Literales diferentes entre hileras difieren $P < 0.05$**

Asimismo en esta figura contiene los promedios de la duración e intensidad del celo; en cuanto a intensidad del estro existe diferencia entre los grupos de alta y baja intensidad ($P < 0.05$) sin importar su duración; así mismo, en cuanto a la duración las diferencias se dan entre los grupos de alta intensidad y baja intensidad (ambos de larga duración) con el resto de los grupos ($P < 0.05$).

De acuerdo al estro clasificado como de alta intensidad el 100% de los animales ovuló, independientemente de la duración del mismo, mientras que de las hembras clasificados como baja intensidad–corta duración el 87% (27/31) ovuló y de los de baja intensidad – larga duración ovularon un 77% (7/9). Sin embargo, solo se observó diferencia significativa de estas proporciones con los animales que no mostraron estro y ovularon (51%) ($P < 0.01$) (Figura 4).

Los animales clasificados como de corta duración independientemente de la intensidad de las conductas tuvieron mejores porcentajes preñez (58%), sin embargo, solo hubo diferencia estadística entre los cuatro grupos (AI-LD, AI-CD, BI-LD, BI-CD) con aquel de animales gestantes sin presentación de celo ($P < 0.05$) (Figura 4).

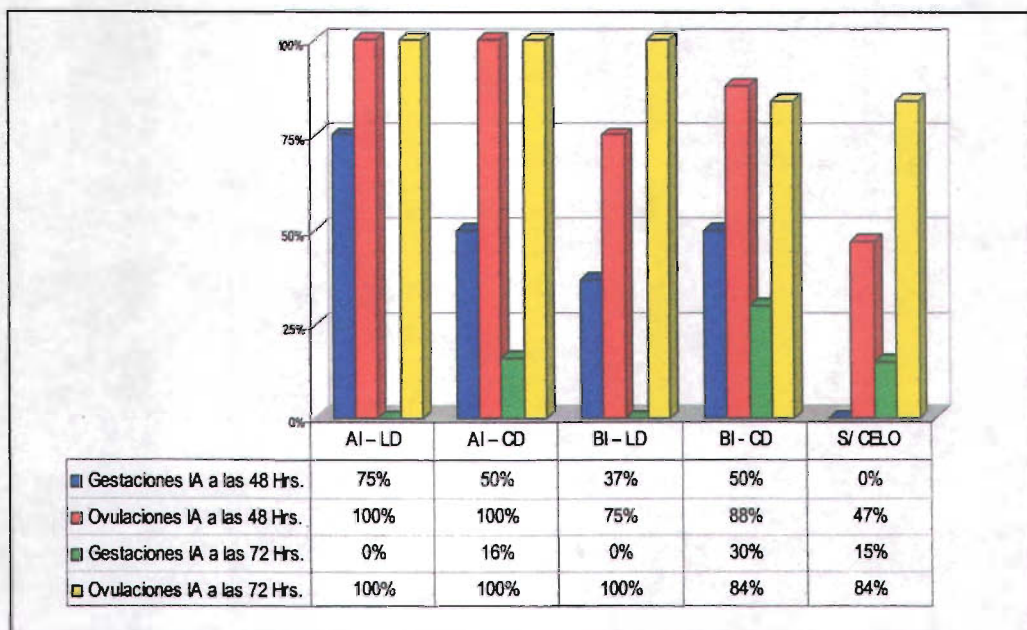


Figura 4. Porcentaje de ovulaciones y gestaciones de acuerdo al tiempo de IA, intensidad y duración del tiempo de presentación de los signos de celo

La tasa general de gestación observada fue del 27% (26/95), siendo la distribución de acuerdo al tipo y duración del celo no significativa ($P > 0.05$) Figura 5.

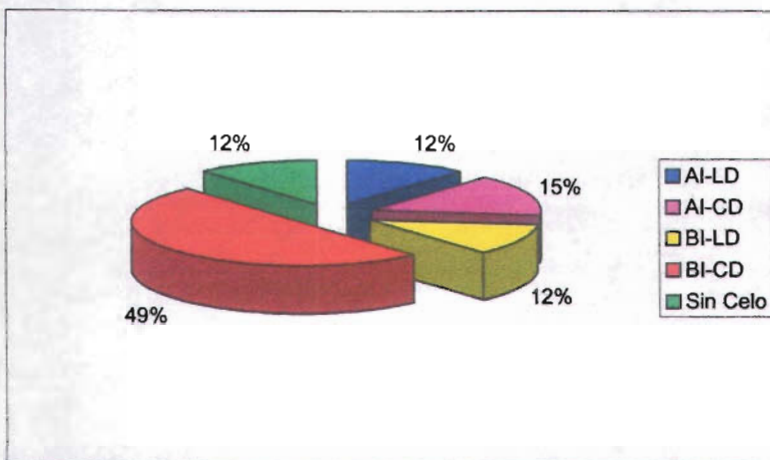


Figura 5. Distribución de las gestaciones de acuerdo a la categorización de los animales, por la intensidad y duración del tiempo de presentación de los signos de celo

VII. DISCUSIÓN

Bajo las condiciones del presente estudio, el tiempo de inseminación artificial (48 ó 72 h) no afectó la tasa de gestación; sin embargo, se observó mejor fertilidad en las hembras que manifestaron conductas de celo. Al respecto Díaz *et al* (10) demostraron que con el uso de tratamientos sincronizadores a base de progestágenos mas la adición de benzoato de estradiol, la proporción de animales que muestran actividad sexual después de retirado el implante es alrededor del 61%, resultado que es similar al obtenido en el presente trabajo. Sin embargo, estos porcentajes son bajos de acuerdo a lo señalado por Porras *et al* (13) quienes mencionan que bajo condiciones del trópico el uso de progestágenos permite la expresión del estro hasta en un 80% de animales. La divergencia entre estudios puede deberse, entre otras cosas, a los diferentes fármacos que se utilizan para sincronizar, aún cuando la base sea un derivado de la progesterona. Asimismo, la eficiencia en la detección oportuna de los celos es un factor que incide directamente en el número de animales reportados en estro (41). Otra posibilidad puede deberse al comportamiento característico de las hembras *Bos indicus* en las cuales juega un papel muy importante el orden social del hato afectándose la manifestación del estro en aquellos animales con baja jerarquía y por tanto disminuyendo la eficiencia reproductiva de estos (5). De igual forma se puede enmascarar la presentación de los signos de celo así como su intensidad (36, 8, 42). Esto puede explicar las causas de que a pesar de que el 100% de los animales recibieron el mismo tratamiento hormonal, la respuesta hacia la manifestación de receptividad sexual fue del 60% de los animales.

Como pudo observarse en el presente estudio se observó una gran variabilidad en cuanto al inicio de la presentación de las conductas sexuales, ya que la primer vaca en iniciar el

periodo de receptividad sexual lo hizo a las 35 horas posteriores al retiro del implante, mientras que la última lo hizo hasta las 80 horas posteriores al retiro del CIDR, esto puede deberse a que los animales independientemente del tiempo esperado de presentación de la conducta de estro tienden a agruparse de tal manera que se forman grupos sexualmente activos, con los cuales puedan interactuar, este efecto se ha demostrado en estudios en donde los hallazgos demuestran que a pesar de realizar una sincronización escalonada los animales no presentan estro al tiempo en que es estimado, sino por el contrario, tienden a adelantar o retrasar dicho evento formando así grupos de interacción (34, 43, 5). Así mismo, se ha observado que el inicio del periodo de receptividad sexual puede prolongarse hasta las 118 horas posteriores al fin del tratamiento sincronizador (4). Sin embargo, el tiempo de inicio de presentación de las conductas tuvo una tendencia por agruparse dentro de las 58 horas posteriores al retiro del CIDR. Al respecto algunos autores han observado este mismo comportamiento, en donde la agrupación de los animales que exhiben el estro se encuentra dentro de las primeras 60 horas una vez finalizado el tratamiento hormonal (44, 45). No obstante, existen animales que se agrupan para dicha manifestación hasta las 72 horas posteriores al tratamiento sincronizador, resultados que concuerdan con lo encontrado por Vaca y colaboradores (4), los cuales sugieren una alta variabilidad en cuanto a la exhibición de las conductas sexuales. Posiblemente este fenómeno sea por la necesidad de encontrar una cantidad mínima de compañeras con las cuales poder interactuar sexualmente y formar un grupo sexualmente activo (46).

Toda esta variación en el inicio y la duración de la actividad sexual puede afectar negativamente el porcentaje de preñez tras inseminación a tiempo fijo, en la cual se puede estar haciéndolo de manera temprana o tardía con respecto a la presentación del celo fisiológico y por tanto, del momento de la ovulación, ya que como lo mencionan Dransfield

et al 1998 (47) la fertilidad de los animales se ve afectada cuando la inseminación se realiza 16 horas posteriores al inicio de la presentación del estro, como en el presente estudio donde en algunas vacas la inseminación se realizó hasta 20 horas después del inicio de su receptividad sexual.

En el presente trabajo, el 90% de los animales que manifestaron celo culminaron este evento con la ovulación, así mismo, Gümen *et al* (48) sincronizando a bases de PGF2 α , observaron que el 80% de los animales que mostraron conductas de celo ovularon. Ambas observaciones confirman lo encontrado por Cavalieri *et al* (49) quienes demostraron que aquellos animales que muestran signos de celo tiene una probabilidad mayor de presentar la ovulación en comparación con los animales que no muestran conducta alguna. Así, en otro estudio, Van Eerdenburg *et al* (50) señalan que la intensidad de dicha presentación determinará el tiempo en el cual ocurrirá la ovulación. Sin embargo, en el presente trabajo se observaron animales que a pesar de manifestar celo no ovularon, esto puede explicarse con el efecto de imitación de conductas señalado por Gutiérrez *et al* (51). En contraste, el hecho de que algunos animales que ovularon no manifestaron conductas de celo, probablemente se debió al lugar que ocupaban dentro del orden social del hato, donde posiblemente no eran los individuos con mayor jerarquía (8) o a la falta de compañeras con las cuales interactuar, ya que se ha observado que cuando existe una demanda alta de compañeras de monta, como es el caso del celo sincronizado, las hembras jerárquicamente inferiores son eliminadas del grupo sexualmente activo (5).

En cuanto a la tasa de gestación, no hubo diferencia en el resultado obtenido en los animales inseminados 48 ó 72 horas después del retiro del implante (28 y 27% respectivamente), sin importar la clasificación en la que fueron agrupados estos animales de acuerdo a la intensidad y duración del periodo de receptividad sexual, estos resultados

concuerdan con los obtenidos por Ando *et al* (45), quienes tras inseminar 48 ó 72 horas posteriores al retiro del CIDR obtuvieron un promedio de gestación del 43%.

Sin embargo, en el presente estudio, en la tasa de gestación solo hubo diferencias con aquellos animales que no mostraron conductas de celo (3%) independientemente del tiempo en el que fueron inseminados (48 ó 72h). Esto concuerda con el estudio realizado por Martínez *et al* (25) quienes observaron que los porcentajes de gestación eran superiores en aquellos animales que mostraban estro con respecto a los que no manifestaban (62.6% vs 51.9%).

Zarco *et al* (52) en un estudio con vacas Holstein e inseminando en diferentes tiempos de acuerdo al momento de presentación del estro; demostraron que el tiempo de inseminación no repercute en el porcentaje de concepción, sino mas bien, con el hecho de que los animales presentaran celo, lo cual confirma los resultados de el presente estudio al observarse que en el total de gestaciones no se observó diferencia estadística entre los dos tiempos de inseminación utilizados en el estudio (48 ó 72 horas).

Dransfield *et al* (47) observaron que al inseminar vacas con más de 100 días en lactación y con más de dos montas, estas tienen mayor probabilidad de quedar preñadas, asimismo, sugieren que vacas inseminadas entre las 4 y 12 horas posteriores a la presentación de la monta tienen una mayor probabilidad de quedar gestantes. Sin embargo, no encontraron diferencia significativa entre el número de montas y el total de gestaciones, lo que concuerda con los datos de este estudio, ya que analizando la relación existente entre la intensidad de las conductas de celo, así como su duración ,con respecto al hecho de quedar gestantes no se ve afectada; por lo tanto los animales que presentan signos de celo tendrán la misma posibilidad de quedar preñadas. Sin embargo, el mayor porcentaje de animales se clasificaron dentro del grupo de corta duración (independientemente de la intensidad de las

conductas), asimismo los animales clasificados como baja intensidad-corta duración se presentó el mayor número de gestaciones (13/26) lo que puede explicarse con el comportamiento característico del ganado *Bos indicus* en el cual tanto la intensidad como la duración en la manifestación del estro es menor (6, 4, 7, 53). No obstante, existen estudios que contradicen lo aquí encontrado, tal es el caso de Van Eerdenburg *et al* (50) quienes señalan que la intensidad de la presentación de la conducta estral determina el tiempo en el cual ocurrirá la ovulación.

Asimismo, este comportamiento puede deberse a las condiciones de los animales en celo sincronizado donde por la naturaleza de las interacciones las hembras muestran receptividad sexual en un periodo más corto en comparación a un estro espontáneo (42). Por ejemplo, Rupp *et al* (54) observaron que la actividad sexual del toro dentro de un hato de hembras en celo al mismo tiempo disminuye conforme aumenta en número de vacas con receptividad sexual lo que sugiere que las hembras tendrán una duración menor del celo (evaluado por el número de montas hacia ellas) conforme la competencia de otras hembras en estro vaya en aumento y por tanto la duración del este será menor.

Un aspecto relevante que se observó en el presente estudio fue el hecho de que solamente 37 de los 95 animales sincronizados no mostraron conducta de celo y de estos el 49% no ovuló lo cual sugiere que bajo las condiciones de este experimento sería poco recomendable la inseminación a tiempo fijo sin observación de celos. En efecto, si se hubieran considerado solamente los animales que presentaron celo y ovularon (n=52) la tasa de gestación correspondería a un 50% (26/52). En contraste de los animales que no mostraron conducta de celo y ovularon (19/37) la tasa de gestación correspondería al 16%. Por otra parte Velásquez (23) en un estudio en vacas doble propósito en estado anéstrico, comparó la utilización de la inyección de benzoato de estradiol (EB) en el protocolo de

sincronización con CIDR, demostró que si se suprimía la inyección de estrógenos, solamente el 13% mostraban celo en comparación con el 60% si se inyectaban estrógenos, sin embargo sólo el 57% de los animales tratados con estradiol ovularon, resultados que indican que la administración de estrógenos aumenta el número de animales con manifestación de celo no así el porcentaje de ovulación. Aquellos animales que no manifestaron conductas de celo y tampoco ovularon (18 de las 37 que no mostraron celo) se consideraron como hembras que no tuvieron respuesta al tratamiento y que corresponde al 19% (18 de los 95 animales tratados).

VIII. CONCLUSIONES.

Bajo las condiciones del presente estudio la inseminación a tiempo fijo bajo un esquema de sincronización a base de progesterona natural (CIDR) más la administración de estrógeno (benzoato de estradiol) al inicio del tratamiento, no causa diferencias en cuanto a la ovulación y el porcentaje de fertilidad entre los animales inseminados a 48 y 72 horas después de retirado el CIDR, no importando el momento en el cual mostraron conducta de celo. Sin embargo, los animales que exhibieron conductas sexuales presentaron un mayor índice de fertilidad en comparación con los que carecieron de estas. Es necesario realizar más estudios con el fin de determinar el momento preciso de la ovulación en ganado *Bos indicus* para así poder determinar el momento óptimo de inseminación.

IX BIBLIOGRAFÍA

1. Galina C.S., Arthur G.H. Review of cattle reproduction in the tropics. Part I. Puberty and age at first calving. *Anim. Breed. Abstr.* 1989;57:583-590.
2. Plasse D. Aspectos del crecimiento de *Bos indicus* en el trópico Americano I. *World Rev. Anim. Prod.* 1978;14:29-48.
3. Plasse D. Aspectos del crecimiento de *Bos indicus* en el trópico Americano II. *World Rev. Anim. Prod.* 1979;15 (1):21-38.
4. Vaca L.A., Galina C.S., Fernández-Baca S., Escobar F.J., Ramírez B. Oestrous cycles, Oestrus and ovulation of the zebu in the Mexican tropics. *Vet. Rec.* 1985;117:434-437.
5. Orihuela A., Galina C.S. and Duchateau A. Behavioral Patterns of Zebu Bulls towards Cows Previously Synchronized with Prostaglandin F₂alfa. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 1988;21:267-276.
6. Galina C.S., Calderón A., McCloskey M. Detection of signs of estrous in the Charolais cows and its Brahman cross under continuous observation. *Theriogenology* 1982;17: 485-498.
7. Anta E., Rivera J.A., Galina C.S., Porras A., Zarco L. Análisis de la información publicada en reproducción en bovinos en México II. Parámetro reproductivos. *Vet. Méx.* 1989;20:11-18.
8. Orihuela A. Some factors affecting the behavioural manifestation of oestrus in cattle: a review. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2000;70:1-16.
9. Orihuela A, Galina CS, Escobar J, Riquelme E. Oestrous behaviour following prostaglandin f₂a injection in Zebu cattle under continuous observation. *Theriogenology* 1983;19:795– 809.

10. Díaz G.S., Galina C.S., Basurto C.H., Ochoa G.P. Efecto de la progesterona natural con o sin adición de benzoato de estradiol sobre la presentación de celo, ovulación y gestación en animales tipo *Bos indicus* en el trópico mexicano. *Arch. Med. Vet.* 2002;34:235-244.
11. Cunningham E.P. The genetic improvement of cattle in developing countries. *Theriogenology* 1989;31: 17-28.
12. Vishwanath R. Artificial Insemination: The state of the art. *Theriogenology* 2003;59: 571-584.
13. Porras A, Galina C., Utilización de progestágenos para la manipulación del ciclo estral bovino. *Vet. Mex XXIII*, 1992;1:31-36.
14. Macmillan K.L. and Peterson A.J. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrous synchronisation, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. *Anim. Reprod. Sci.* 1993;33:1-25.
15. Bó G.A., Adams G.P., Pierson R.A., Mapletoft R.J. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 1995;43:31-40.
16. Diskin M.G., Austin E.J., Roche J.F. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domest. Anim. Endoc.* 2002;23:211-228.
17. Perry G.A., Smith M.F. and Patterson D.J. Evaluation of a fixed-time artificial insemination protocol for postpartum suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 2002;80:3060-3064.
18. Rhodes F.M., Burke C.R., Clark B.A., Day M.L., Macmillan K.L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. *Anim. Reprod. Sci.* 2002;69:139-150.

19. Day M.L., Burke C.R., Taufa V.K., Day A.M., Macmillan K.L. The strategic use of estradiol to enhance fertility and submission rates of progestin-based estrus synchronization programs in dairy herds. *J. Anim. Sci.* 2000;78:523-529.
20. Martinez M. F., Adams G. P., Kastelic J. P., Bergfelt D., Mapletoft R. J. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology* 2000;54:757-769.
21. Bridges P.J., Lewis P.E., Wagner W.R., Inskip E.K. Follicular growth, estrus and pregnancy after fixed-time insemination in beef cows treated with intravaginal progesterone inserts and estradiol benzoate. *Theriogenology* 1999;52: 573-583.
22. Fetter (datos no publicados) .
23. Velázquez P.H. Desarrollo de un programa de inducción de la ovulación en vacas Anestricas doble propósito en fincas de pequeños productores del trópico veracruzano mediante progestágenos y estrógenos. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia . UNAM. México. 2004
24. Ross P.J., Aller J.F., Callejas S.S., Butlerd H., Alberio R.H. Estradiol Benzoate given 0 or 24 h after the end of a progestagen treatment in postpartum suckled beef cows. *Theriogenology* 2004;62:265-273.
25. Martinez M.F., Kastelic J.P., Adams G.P., Mapletoft R.J. The use of GnRH or estradiol to facilitate fixed-time insemination in an MGA-based synchronization regimen in beef cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 2001;67:221-229.
26. Trimberger G.W. Breeding Efficiency in Dairy Cattle from Artificial Insemination at Various Intervals Before and After Ovulation. *Research Bulletin* 1948;153:3-26.
27. Jordan E.R., Shoutent M.J., Quast J.W., Belschner A.P., Tomaszewski M.A. Comparison of Two Timed Artificial Insemination (TAI) Protocols for Management of First Insemination Postpartum. *J. Dairy Sci.* 2002;85:1002-1008.

28. Tenhagen B.A., Kuchenbuch S., Heuwieser W. Timing of Ovulation and Fertility of Heifers After Synchronization of Oestrus with GnRH and Prostaglandin F₂ α . *Reprod.* 2005;40:62 (Publicación en proceso)
29. Colazo M.G., Kastelic J.P., Mapletoft R.J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. *Theriogenology* 2003;60:855-865.
30. Martínez M.F., Kastelic J.P., Adams G.P., Mapletoft R.J. The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 2002;80:1746-1751.
31. Stenger J.E., Bader J.F., Kojima F.N., Ellersieck M.R., Smith M.F., Patterson D.J. Fixed-time artificial insemination of postpartum beef cows at 72 or 80 h after treatment with the MGA. Select protocol. *Theriogenology* 2004;61:1299-1305.
32. Cutaia I., Bó G.A. Factores que afectan los resultados en programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en rodeos de cría utilizando dispositivos con progesterona. Primer Simposio Internacional de Reproducción, Venezuela, 2004;109-123.
33. Peeler I.D., Nebel R.L., Pearson R.E., Swecker W.S, Garcia A. Pregnancy Rates After Timed AI of Heifers Following Removal of Intravaginal Progesterone Inserts. *J. Dairy Sci.* 2004;87:2868-2873.
34. Maquivar M., Galina C.S., Orihuela A. Cows treated with Synchronate B may cluster their sexual behaviour independent of follicular growth at the time of Oestrus. *Physiol. and Behav.* 2002;76:199-203.
35. Solano J., Orihuela A., Galina C.S., Montiel F. Sexual behaviour of Zebu cattle (*Bos indicus*) following estrous induction by Synchro-Mate B, with or without estrogen injection. *Physiol. and Behav.* 2000;71:503-508.

36. Galina C.S., Orihuela A., Rubio I. Behavioural trends affecting oestrus detection in Zebu cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 1996;42:465-470.
37. Tenhagen B.A., Drillich M., Heuwieser W. Analysis of cow factors influencing conception rates after two timed breeding protocols. *Theriogenology* 2001;56:831-838.
38. Pulido A., Zarco L., Galina C.S., Murcia C., Flores G., Posadas E. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. *Theriogenology* 1991;35:965-975.
39. Kuehl OR. Diseño de experimentos. 2da edición México: Ed. Thomson Learning, 2001.
40. Dawson-Saunders B, Trapp G.R. Bioestadística Médica. 2ed. Manual Moderno México, D.F. 1997.
41. Bó G.A., Baruselli P.S., Martínez M.F. Pattern and manipulation of follicular development. *Anim. Reprod. Sci.* 2003;78:307-326.
42. Landaeta-Hernández A.J., Yelich J.V., Willard Lemaster J., Fields M.J., Tran T., Chase C.C. , Owen Rae D., Chenoweth P.J. Environmental, genetic and social factors affecting the expression of estrus in beef cows. *Theriogenology* 2002;57:1357-1370.
43. Cortés R., Orihuela A., Galina C. Effect of Sexual Partners on the Oestrous Behaviour Response in Zebu Cattle (*Bos indicus*) Following Synchronization with a Progestagen (Synchro-Mate B). *J. Anim. Sci.* 1999;12:515-519.
44. Medrano A., Hernández O., Lamothe C. Evidence of asynchrony in the onset of signs of Oestrus in zebu cattle treated with a progestogen ear implant. *Resesrch Vet. Sci.* 1996;60:51-54.
45. Ando T., Kamimura S., Hamana K. Estrous Synchronization using Intravaginal Progesterone Device in Combination with GnRH or Estradiol Benzoate characterized by the inicial Ovarian Conditions in Japanese Black Cows. *J. Vet. Med. Sci.* 2004;66:1497-1502.

46. Solano J., Orihuela A., Galina C.S., Montiel F. Sexual behavior of Zebu cattle (*Bos indicus*) following estrous induction by Synchro-Mate B, with or without estrogen injection. *Physiol. and Behav.* 2000;71:503-508.
47. Dransfield G., Nebel L., Person E., Warnick D. Timing of Insemination for Dairy Cows Identified in Estrus by a Radiotelemetric Estrus Detection System. *J. Dairy Sci.* 1998;81:1874-1882.
48. Gümen A., Guenther J.N., Wiltbank M.C. Follicular Size and Response to Ovsynch Versus Detection of Estrus in Anovular and Ovular Lactating Dairy Cows. *J. Anim. Sci.* 2003;86:3184-3194.
49. Cavalieri J., Kinder J.E., Death G., Fitzpatrick L.A. Effect of 48 h treatment with 17 beta-oestradiol or progesterone on follicular wave emergence and synchrony of ovulation in *Bos indicus* cows when administered at the end of a period of progesterone treatment. *Anim. Reprod. Sci.* 1997;46:187-201.
50. Van Eerdenburg F.J.C.M., Karthaus D., Teverne M.A.M., Merics I., Szenic O. The Relationship between Estrous Behavioral Score and Time of Ovulation in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 2002;85:1150-1156.
51. Gutierrez C., Galina C., Rubio I. The Influence of the Social Structure of a Zebu Herd on the Manifestation of Signs of Oestrus. *World Rev. Anim. Prod.* 1993;28:57-70.
52. Zarco L., Hernández J. Momento de ovulación y efecto del intervalo entre el inicio del estro y la inseminación artificial sobre el porcentaje de concepción de vaquillas Holstein. *Vet. Méx.* 1996;27:279-283.
53. Galina, C.S., Arthur, G.H. Review on cattle reproduction in the tropics. Part 4. Oestrus cycles. *Anim. Breed. Abstr.* 1990;58:697-707.
54. Rupp G.P., Ball L., Shoop M.C., Chenoweth P.J. Reproductive Efficiency of Bulls in Natural Service: Effects of Male to Female Ratio and Single- vs Multiple-Sire Breeding Groups. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1977;171:639-642.