

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

EL USO DE HERRAMIENTAS REPRODUCTIVAS PARA
AUMENTAR LAS TASAS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO Y
DE CONCEPCIÓN EN GANADO CEBÚ (*Bos indicus*)

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

ALDO CÉSAR ALBARRÁN CRUZ

Asesores:

Dr. Ángel Rosendo Pulido Albores
Dr. Manuel Dionisio Corro Morales



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a su Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical por financiar la investigación.

A los laboratorios Pfizer de México por la donación del material utilizado en esta investigación (CIDR, ECP y Ovalyse).

A mi asesor el Dr. Ángel R. Pulido Albores por dirigir y supervisar este trabajo, por enseñarme que en la vida personal y profesional siempre hay que tener un orden y marcar la diferencia dejando una huella positiva y así poder ser un hombre de bien. Gracias por prestarme tu confianza y amistad.

Al Dr. Manuel D. Corro Morales por tomarse un tiempo para asesorarme y apoyarme en la realización de este trabajo, sobre todo por su gran amabilidad.

Al personal del Módulo de Producción de Vaquillas F1 del CEIEGT por su enseñanza, orientación, apoyo y amistad, especialmente a los señores Javier Juárez y Javier Jiménez.

Al personal de la biblioteca del CEIEGT por su apoyo y sincera amistad.

DEDICATORIAS

A Jehová Dios por sobre todas las cosas.

A Rafael Albarrán García, mi padre, por todas las oportunidades que me brinda, por apoyarme siempre en mis triunfos y fracasos, por su elevado sentido de responsabilidad que inspira, quiero ser como tú.

A María Clara Cruz López, mi madre, por cuidarme, guiarme, apoyarme y estar presente en cada momento. Gracias por ser una buena amiga.

A Lizbeth Albarrán Cruz, mi hermana, por condimentar mi infancia, dificultar mi pubertad y apoyarme en esta etapa de mi vida, te quiero mucho.

A Frida Valeria Albarrán Cruz, mi sobrina, por alegrar mi vida en los momentos más difíciles, gracias por venir.

A todos aquellos familiares y amigos que de alguna u otra forma estuvieron y están presentes.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIAS	iii
CONTENIDO.....	iv
LISTA DE CUADROS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	4
2.1. El ganado Cebú.....	4
2.2. Sincronización del estro.....	6
2.2.1. Métodos de sincronización del estro	6
2.2.1.1. Tratamientos con prostaglandinas	7
2.2.1.2. Tratamientos con GnRH y LH	7
2.2.1.3. Tratamientos con progesterona	8
2.2.1.4. Tratamientos con progesterona/estrógenos	9
2.3. Importancia de la sincronización del estro en ganado Cebú	10
2.3.1. Tasas de sincronización del estro en ganado Cebú	11
2.3.2. Tasas de concepción en ganado Cebú.....	13
2.4. Ultrasonografía	14
2.5. GnRH como inductor de la ovulación	15
3. HIPÓTESIS	16
4. OBJETIVOS	16
4.1. Objetivo general	16
4.2. Objetivo específico.....	16
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	17
5.1. Localización	17
5.2. Animales experimentales.....	17
5.3. Metodología	18
5.3.1. Fase I.....	18
5.3.1.1. Tratamiento 1	18
5.3.1.2. Tratamiento 2.....	19
5.3.2. Fase II.....	19
5.3.3. Diagnóstico de gestación	19
5.4. Análisis estadístico	20
6. RESULTADOS.....	21
6.1. Fase I	21
6.2. Fase II	24
7. DISCUSIÓN	29
8. CONCLUSIONES.....	37
9. BIBLIOGRAFÍA.....	38

LISTA DE CUADROS

	<u>Página</u>
Cuadro 1. Tasas de sincronización del estro con diferentes tratamientos aplicados en ganado Cebú.	13
Cuadro 2. Número de vacas ciclando y en anestro al momento de la inserción de implante con progesterona.	21
Cuadro 3. Número y porcentaje de vacas con signos de estro.	22
Cuadro 4. Características de los ovarios de las vacas con signos de estro al momento de insertar el implante con progesterona.	22
Cuadro 5. Promedio de horas a estro en los diferentes grupos.	23
Cuadro 6. Distribución de las vacas que no mostraron signos de estro.	24
Cuadro 7. Características de los ovarios de las vacas que no mostraron signos de estro.	25
Cuadro 8. Características de los ovarios de las vacas inseminadas con folículos mayores o iguales a 14 mm	26
Cuadro 9. Características de los ovarios de las vacas que no respondieron a los tratamientos.	28

LISTA DE FIGURAS

	<u>Página</u>
Figura 1. Tasa de concepción de las vacas inseminadas en los 2 tratamientos. ...	23
Figura 2. Porcentaje de vacas gestantes y vacías inseminadas con GnRH.	25
Figura 3. Porcentaje de vacas inseminadas y no inseminadas por tratamiento.	26
Figura 4. Tasa de concepción general para la fase II.....	27

RESUMEN

Albarrán Cruz Aldo César. El uso de herramientas reproductivas para aumentar las tasas de sincronización del estro y de concepción en ganado Cebú (*Bos indicus*) (bajo la dirección de Ángel R. Pulido Albores y Manuel D. Corro Morales).

El objetivo de la presente investigación fue determinar si aplicar 1.0 mg de Cipionato de Estradiol al momento de insertar un implante liberador de progesterona es suficiente para incrementar las tasas de sincronización del estro y de concepción en ganado Cebú. Se utilizaron 88 vacas Cebú de las razas Brahman, Gyr, Sardo Negro e Indobrasil, de las cuales el 89.8% estaba ciclando. Las hembras fueron divididas aleatoriamente en dos tratamientos (tratamiento 1 (n = 45) y Tratamiento 2 (n = 43), en ambos tratamientos se les aplicó un dispositivo intravaginal liberador de progesterona, CIDR® por 8 días, en el día 0 se les aplicó una inyección intramuscular de 1.0 mg de Cipionato de Estradiol, (ECP®) (Tratamiento 1) o 2.0 mg de Benzoato de Estradiol (Cidirol®). Los animales fueron observados después de retirado el implante dos veces al día de 6 a 9 hrs. y de 17 a 20 hrs. durante 3 días para determinar si alguna vaca presentó signos de estro. Se determinó el celo cuando una vaca se dejó montar. Las vacas que se observaron en celo por la mañana fueron inseminadas por la tarde y viceversa. Todos los animales de los tratamientos 1 y 2 que no presentaron signos de estro a las 48 horas de retirado el implante liberador de progesterona se evaluaron ultrasonográficamente cada 12 horas por 3 períodos, con la finalidad de observar un folículo dominante mayor o igual a 14mm, si existía dicho folículo, se aplicó una inyección intramuscular profunda de 100 µg de GnRH (Ovalyse®) y se inseminó inmediatamente. Se realizó un diagnóstico de gestación temprano mediante ultrasonografía a los 30 días posteriores a la inseminación. Los datos fueron analizados mediante la prueba de Ji-cuadrada (X^2).

La proporción total de vacas observadas con signos de estro después de retirado el implante fue de 39.8% (35/88) siendo similar entre los tratamientos 1 y 2 (42.2% vs. 37.2%; $P = 0.397$), respectivamente. El 42.9% (15/35) del total de las vacas se observó gestante, 47.4% vs. 37.5%; ($P = 0.404$) para los tratamientos 1 y 2, respectivamente. Se realizó ultrasonografía al 60.2% (n = 53) de las vacas ya que no mostraron signo alguno de estro. Se observaron 4 y 13 vacas con un folículo igual o mayor a 14 mm para los tratamientos 1 y 2 respectivamente, mostrando diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.011$). Las 17 vacas fueron inseminadas y una proporción de 29.4% se observó gestante no habiendo diferencia entre los tratamientos ya que 2/4 y 3/13 vacas fueron observadas gestantes para los tratamientos 1 y 2, respectivamente (50% vs. 23.1%; $P = 0.330$). La tasa de concepción para este grupo de vacas fue de 38.46% no habiendo diferencia entre la proporción de vacas gestantes en ambos tratamientos (47.8 vs. 31%; $P = 0.445$). Se concluye que el Cipionato de Estradiol no es un sustituto apropiado del Benzoato de Estradiol al momento de insertar un implante intravaginal con progesterona para mejorar las tasas de sincronización y de concepción en ganado Cebú (*Bos indicus*).

1. INTRODUCCIÓN

Las razas más populares en las áreas del trópico de México pertenecen a la especie *Bos indicus* (1) debido a que este tipo de ganado está mejor adaptado a las condiciones del trópico (2). Sin embargo, el ganado Cebú tiene una baja eficiencia reproductiva (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8).

El uso de herramientas reproductivas ha adquirido gran importancia, particularmente en las regiones de trópico y subtropical donde la inseminación artificial es la única alternativa para acelerar el progreso genético al introducir genes de *Bos taurus* que permiten mejorar la producción de leche o de carne en ganado de tipo Cebú. No obstante, la variabilidad de la respuesta a los tratamientos hormonales, la pobre detección del estro causada por un periodo de duración relativamente corto, una pobre manifestación de los signos secundarios, la ignorancia o a la falta de conocimiento de los síntomas por parte de los productores y sistemas de producción extensivos que impiden una frecuente observación de las vacas aunado al tiempo y esfuerzo requeridos para aplicar los tratamientos y la detección de estros limitan la difusión de la aplicación y éxito de esas tecnologías (6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14).

La sincronización del estro es una herramienta efectiva para maximizar el uso del tiempo y el trabajo requeridos para detectar estros manifiestos en ganado (15). La exactitud y eficiencia en la detección de estros dependerá de la frecuencia, hora y duración de los tiempos de observación.

Actualmente, el uso de dispositivos intravaginales con progesterona combinados con Benzoato de Estradiol es uno de los tratamientos más populares alrededor del mundo en ganado productor de leche y carne (16, 17,

18, 19, 20). No obstante, el ECP, un ester de Estradiol de baja solubilidad y baja absorción en relación con el sitio de aplicación, que presenta niveles plasmáticos superiores a 100 hrs, es el único estrógeno ester con licencia para ser utilizado en el ganado en Norte América (21) por lo que su uso se ha venido incrementando pero no se ha reportado la utilización de este fármaco en comparación con el Benzoato de Estradiol (22).

Vacas lecheras sujetas a un protocolo de sincronización utilizando ECP para inducir la ovulación tuvieron altas tasas de concepción y de preñez cuando se observaron en estro y se inseminaron. (23). Sin embargo, la respuesta del ECP en comparación con el BE no ha sido reportada en ganado Cebú. En este sentido, el objetivo de este trabajo es determinar si el ECP es un sustituto apropiado del BE al momento de insertar un implante intravaginal con progesterona para mejorar las tasas de sincronización y concepción en vacas Cebú, además de determinar si es posible aumentar la tasa de concepción en vacas inseminadas artificialmente con la ayuda del diagnóstico de un folículo \geq a 14 mm a través de la ultrasonografía y la aplicación de 100 μ g de GnRH en vacas que no muestren signos de estro.

2. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. El ganado Cebú

En diferentes países con regiones de trópico y subtrópico predominan las razas de ganado Cebú sobre las razas de ganado europeo (6) debido a que la ganadería en este tipo de zonas se basa en las cruces de ganado Cebú (*Bos indicus*) con ganado Suizo y Holstein (*Bos taurus*) principalmente (24). El ganado Cebú está mejor adaptado a las condiciones del trópico, es más resistente a los ectoparásitos comunes de estas zonas, aprovecha mejor los pastos y es más longevo, aunque, por otro lado, tiene tasas de conversión alimenticia bajas, alcanza la madurez sexual 12 a 18 meses después y su producción de carne y leche es menor si se compara con el ganado europeo, sin embargo, este último, tiene pocas oportunidades de sobrevivir bajo las condiciones adversas que imperan en los trópicos (2). No obstante, el ganado Cebú tiene una baja eficiencia reproductiva (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8).

Existen diferencias fisiológicas y de comportamiento entre el ganado Cebú y el ganado *Bos taurus* que pueden influir en los procesos reproductivos por lo que no es adecuado extrapolar información que se tiene sobre ganado europeo en altiplano hacia el ganado asiático en clima tropical ya que son especies diferentes que llevan consigo distintos caracteres que les hacen no responder de la misma manera a determinado manejo (5, 9, 25).

El ganado Cebú tiende a presentar un corto periodo de estro y altas tasas de expresión de estro durante la noche (6, 26). Se ha demostrado utilizando radiotelemetría que la duración media del estro es 3.4 hrs más corta en vacas Nelore (12.9 hrs) que en vacas Angus (16.3 hrs) (27). Pinheiro et al (6) reporto

un 53.8% de expresión de estros durante la noche, del cual 30.7% comenzó y terminó durante la noche.

Bó et al (28) han descrito la dinámica de las ondas foliculares en el ganado Cebú. En general, las características del desarrollo folicular fueron similares en ganado Cebú y en ganado Bos taurus, pero, el ganado Cebú posee folículos dominantes y cuerpos lúteos de menor diámetro. Randel (10) observó que el cuerpo lúteo de hembras puras Cebú tienen menos progesterona por gramo de tejido luteal que las hembras Bos taurus y Segerson et al (29) reportó que las concentraciones de progesterona en suero son más bajas en hembras Cebú comparadas con hembras Bos taurus. Además, las vacas Cebú tienen gran sensibilidad a gonadotropinas exógenas (30).

Cuando una hembra se encuentra bajo condiciones favorables, tiene el potencial de producir una cría al año con un intervalo entre partos de 12 meses (31). Sin embargo, las hembras de tipo Cebú, bajo las condiciones del trópico exhiben una alta incidencia a presentar anestro post-parto lo que incrementa el intervalo parto-concepción y en consecuencia, efectos negativos en la eficiencia reproductiva. Se ha observado que el ganado Cebú en condiciones de pastoreo natural se reestablece su ciclo estral de 217 a 278 días después del parto, resultando en un intervalo entre partos de 17 a 19 meses por lo que el anestro post-parto es uno de los principales factores que afectan la eficiencia reproductiva (32).

2.2. Sincronización del estro

La sincronización del estro consiste en manipular el ciclo estral o inducir al estro a un alto porcentaje de vacas dentro de un grupo en un periodo de tiempo predeterminado (15). Un programa efectivo de sincronización de estros ofrece las siguientes ventajas: 1) vacas y novillonas presentaran signos de estro en un tiempo dado lo que facilita la inseminación artificial u otras técnicas reproductivas asistidas; 2) el tiempo requerido para la detección de estros es menor lo que reduce el costo asociado con la labor de detección de calores; 3) las hembras ciclando podrán concebir al inicio de la época de empadre; 4) la inseminación artificial será más factible. Además algunos protocolos de sincronización pueden inducir a una proporción de vacas en anestro para que comiencen a ciclar (33, 34, 35).

2.2.1. Métodos de sincronización del estro

En la actualidad se cuenta básicamente con dos métodos para controlar el ciclo estral en el ganado bovino:

- a. Se acorta la vida media del cuerpo lúteo provocando su lisis mediante la administración de sustancias luteolíticas, principalmente la prostaglandina F₂ α o sus análogos sintéticos.
- b. Se simula la prolongación de una vida media funcional del cuerpo lúteo mediante la administración de progesterona o análogos sintéticos (26, 36, 37).

2.2.1.1. Tratamientos con prostaglandinas

La prostaglandina F_{2α} (PGF) ha sido comúnmente más utilizada para la sincronización del estro en el ganado. Los primeros estudios mostraron que la PGF no es efectiva para inducir luteolisis en los primeros 5 días del ciclo estral, y cuando la luteolisis fue inducida, esta ocurrió en a partir del día 6. El intervalo de la aplicación del tratamiento con PGF al estro y ovulación es determinado por el estadio del folículo dominante en el periodo del tratamiento. Esto enfatiza el hecho de que ambas fases luteal y folicular deben ser reguladas para tener un control preciso del momento de la ovulación (16).

2.2.1.2. Tratamientos con GnRH y LH

Existen diferentes maneras de regular el desarrollo folicular en el ganado. Una inyección de Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) u Hormona Leuteinizante (LH) puede inducir la ovulación de un folículo dominante (38), que dará lugar a la aparición sincrónica de una nueva onda folicular, en un promedio de 2 días posteriores a su aplicación. Por lo tanto, los protocolos que utilizan GnRH y PGF se han desarrollado principalmente para protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado de carne y ganado de leche. El protocolo conocido como Ovsynch (39), implica una inyección de GnRH seguida de una inyección de PGF 7 días después, una inyección de GnRH 48 hrs más adelante e inseminación artificial en 0-24 hrs. Cosynch implica la inseminación artificial al momento de aplicar la segunda inyección de GnRH. El protocolo de Ovsynch ha sido menos eficaz en novillas que en vacas sobre todo porque la primera inyección de GnRH induce la ovulación en solamente cerca del 50% de las novillas y en más del 80% de las vacas (39, 40).

2.2.1.3. Tratamientos con progesterona

La progesterona y sus análogos sintéticos suprimen el estro y la ovulación actuando a través de un mecanismo de retroalimentación negativa sobre la liberación de la LH reduciendo las pulsaciones de dicha hormona al impedir que algún folículo complete su desarrollo y ovule. Una vez retirado el fármaco, los folículos de todas las vacas tratadas completarán su desarrollo sincrónicamente lo que provoca el estro sincronizado (16, 37). Los progestágenos se pueden administrar vía oral, este es el caso del Acetato de melengestrol (MGA) el cual se administra mezclado con granos (41). Existen además los implantes auriculares que contienen norgestomet (17α -acetoxy- 11β methyl-19-norpreg-4-en-3,20 dione), es un progestágeno sintético con actividad biológica en implantes de dimensiones reducidas (42), estos se utilizan en un periodo de 9 a 10 días y al momento de la inserción del implante se aplica una solución oleosa por vía intra-muscular que contiene 5 mg de Valerato de Estradiol y 3 mg de norgestomet (43, 44, 45).

Se ha observado que los progestágenos elevan la presentación de folículos persistentes, ya que estos no suprimen completamente la secreción de la hormona LH como sucede en presencia del cuerpo lúteo, inhibiendo de esta forma una nueva oleada folicular al retirar la fuente exógena de progesterona, pudiendo ocurrir la ovulación del folículo persistente, pero con pocas probabilidades de ser fertilizado por la edad del mismo por lo que la tasa de concepción se ve disminuida (46, 47). Otras causas de baja fertilidad pueden ser defectos en el transporte de espermatozoides y la mala calidad del ovocito (48).

Existen en el mercado los dispositivos intravaginales de liberación controlada de progesterona denominados CIDR (Controlled Internal Drug Releasing), el cual tiene forma de "T" y está impregnado con una capa homogénea de 1.9 gr de Progesterona natural micronizada al 10% en silicona inerte; presenta dos alas que pueden plegarse para facilitar su inserción, una vez insertado las alas vuelven a su forma original para ejercer presión en las paredes vaginales para ser retenido (49). Se aplica durante 9 a 10 días y se puede llegar a obtener un 99.6% de manifestación de estros después del tratamiento con un índice de concepción de 57.7% (50).

2.2.1.4. Tratamientos con progesterona/estrógenos

Con el fin de disminuir el tiempo del tratamiento con progesterona o sus análogos y no afectar las tasas de concepción se debe añadir al tratamiento agentes luteolíticos (estrógenos o prostaglandinas) que se aplican al inicio (37, 46, 47). Esto permite un buen control del estro y mejores índices de concepción a los logrados con tratamientos largos de 18 a 21 días (37).

Los estrógenos poseen una acción luteolítica, disminuyen a través de un mecanismo de retroalimentación negativa la secreción de FSH del Hipotálamo y de GnRH de la Hipófisis y promueven también el desarrollo de nuevas ondas foliculares (51). La administración de 5 mg de 17- β Estradiol al momento de aplicar un implante con progesterona promueve la emergencia de una nueva ola folicular en promedio, 4.3 ± 0.2 días después (16). La inyección intramuscular de 5 mg de benzoato de Estradiol (BE) o de Valerato de Estradiol (VE), o de 1 mg de Cipionato de Estradiol (ECP) da lugar a la aparición menos sincrónica de una onda folicular (16); la administración de 2 mg de BE (16) o 2

mg de VE (52) dan lugar a la aparición sincrónica de la onda folicular de 3 a 5 días después. Otros trabajos sugieren que para obtener mayores índices de preñez había que inducirse la ovulación utilizando una segunda dosis de Estradiol (17, 53).

Actualmente, el uso de dispositivos intravaginales con progesterona combinados con Benzoato de Estradiol es uno de los tratamientos más populares alrededor del mundo en ganado productor de leche y carne (16, 17, 18, 19, 20). No obstante, el ECP, un ester de Estradiol de baja solubilidad y baja absorción en relación con el sitio de aplicación, que presenta niveles plasmáticos superiores a 100 hrs, es el único estrógeno ester con licencia par ser utilizado en el ganado en Norte América (21) por lo que su uso se ha venido incrementando pero no se ha reportado la utilización de este fármaco en comparación con el Benzoato de Estradiol (22) y dosis bajas de ECP no han sido estudiadas (16). Vacas lecheras sujetas a un protocolo de sincronización utilizando ECP para inducir la ovulación tuvieron altas tasas de concepción y de preñez cuando se observaron en estro y se inseminaron. (23), sin embargo, la respuesta del ECP en comparación con el BE no ha sido reportada en ganado Cebú.

2.3. Importancia de la sincronización del estro en ganado Cebú

Actualmente, la situación económica mundial requiere de prácticas y eficientes técnicas de manejo que incrementen la rentabilidad de las operaciones en el ganado. Una óptima eficiencia reproductiva es crucial para incrementar las ganancias. El uso de herramientas reproductivas ha adquirido gran importancia, particularmente en las regiones de trópico y subtrópico donde la

inseminación artificial es la única alternativa para acelerar el progreso genético al introducir genes de *Bos taurus* que permiten mejorar la producción de leche o de carne en ganado de tipo Cebú. Sin embargo, la variabilidad de la respuesta a los tratamientos hormonales, la pobre detección del estro causada por un periodo de duración relativamente corto, una pobre manifestación de los signos secundarios, la ignorancia o a la falta de conocimiento de los síntomas por parte de los productores y sistemas de producción extensivos que impiden una frecuente observación de las vacas aunado al tiempo y esfuerzo requeridos para aplicar los tratamientos y la detección de estros limitan la difusión de la aplicación y éxito de esas tecnologías (6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14). Por lo tanto, desarrollar métodos que efectivamente sincronicen el estro en el ganado son necesarios para incrementar el uso de la inseminación artificial (54, 55).

2.3.1. Tasas de sincronización del estro en ganado Cebú

La sincronización del estro es una herramienta efectiva para maximizar el uso del tiempo y el trabajo requeridos para detectar estros manifiestos en ganado (15). La exactitud y eficiencia en la detección de estros dependerá de la frecuencia, hora y duración de los tiempos de observación.

Miranda (56) y Maquívar (57) estudiaron el efecto de un tratamiento de sincronización del estro con Norgestomet y VE en ganado Cebú y obtuvieron una tasa de 88.2% y 75% respectivamente observando a las vacas continuamente durante 100 horas. Asimismo, Cavalieri *et al* (58) trabajaron con vacas de raza Brahman, dedicaron un tiempo de observación de una hora cada 6 horas obtuvieron una tasa de sincronización del estro de 89.5%. Con el

mismo tratamiento aplicado en ganado Cebú, Molina (59) observó a las vacas en un horario de 6:30 a 9, 11-13 y de 16- 18 horas y obtuvo una tasa de sincronización del estro de 53.8%.

Utilizando un tratamiento con Prostaglandinas en ganado Cebú, Galindo (60) y Gutiérrez (61) obtuvieron una tasa de sincronización del estro de 74 y 57% respectivamente observando a los animales continuamente, Méndez (62) obtuvo el 85% de vacas con signos de estro al observar continuamente a las vacas utilizando el mismo tratamiento en ganado Cebú.

Parada (63) evaluó el efecto del tratamiento con CIDR y VE sobre la tasa de sincronización en vacas Cebú y obtuvo un resultado de 47.05% de vacas con signos de estro observando a los animales una hora a las 6, 12 y 18 horas del día (Cuadro 1). Lo anterior sugiere que a mayor tiempo de observación de las vacas, mayores tasas de sincronización serán reportadas para el ganado Cebú.

Cuadro 1. Tasas de sincronización del estro con diferentes tratamientos aplicados en ganado Cebú.

Autor	Tasa de sincronización del estro	Tratamiento	Tiempo de Observación
Cavaliere J <u>et al.</u> (58)	89.5%	Norgestomet + VE + PMSG	1 hr cada 6 hrs
Miranda BF (56)	88.2%	Norgestomet + VE + eCG	Continua Por 100 hrs
Méndez PB <u>et al.</u> (62)	85%	PGF2 α	Continua
Maquívar LM (57)	75%	Norgestomet + VE	Continua
Galindo MF (60)	74%	PGF2 α	Continua
Gutiérrez AC (61)	57%	PGF2 α	Continua Por 100 hrs
Molina MO (59)	53.8%	Norgestomet + VE + eCG	6:30-9,11-13,18-19 hrs Por 3 días
Parada CM (63)	47.05%	CIDR + VE + eCG	1 hr a las 6-12-18 hrs por 94 hrs

2.3.2. Tasas de concepción en ganado Cebú

La tasa de concepción se define como la proporción de vacas diagnosticadas preñadas que completaron el tratamiento y que fueron exitosamente inseminadas (64). En su estudio recapitulativo, Galina et al (36) indican que la fertilidad (determinada por el porcentaje de concepción a primer servicio) en hembras sincronizadas con prostaglandinas o progestágenos es similar entre tratamientos, estimando un promedio general de 43%, bajo condiciones tropicales. Porras (65) evaluó la efectividad del tratamiento con Syncromate-B vacas ciclando sin lactar y vacas en anestro, el porcentaje de concepción que mostraron fue de 23.1% y 14.6% para dichos grupos respectivamente. Similares estudios se realizaron en razas Cebú (Nelore) en Brasil aplicando un tratamiento de sincronización del estro con prostaglandina F2 α en el cual se

reporto una tasa de concepción de 40% y 35.7% en dos experimentos (3) lo que sugiere que en ganado Cebú las tasas no rebasan el 50%.

2.4. Ultrasonografía

Debido a la dificultad que representa la detección de vacas de tipo Cebú en estro aun bajo tratamientos de sincronización, el uso de modernas herramientas como el ultrasonido juegan un papel importante para entender y monitorear la dinámica folicular del ovario bovino y así describir los cambios morfológicos del mismo y de las estructuras ováricas (folículo y cuerpo lúteo), asociados a diferentes estados fisiológicos sin la necesidad de ser invasivo y sin interrumpir los eventos fisiológicos normales (66, 67, 68, 69).

El ultrasonido se define como cualquier frecuencia de sonido por arriba del rango normal auditivo al oído humano, mayor a 20,000 Megahertz. La ultrasonografía utiliza altas ondas de frecuencia de sonido para producir imágenes transversales (seccionales) de tejidos y órganos internos. Las ondas de sonido son producidas por medio de vibraciones de cristales especiales (cristales eléctricos de piezo) contenidos en el transductor del ultrasonido, las pulsaciones de dichos cristales son producidas por pulsos electrónicos provenientes de la corriente eléctrica. Una proporción de las ondas de sonido es reflejada de regreso al transductor, convirtiéndose en corriente eléctrica y mostrándola como eco en la pantalla del ultrasonido. El transductor funciona como emisor y receptor de ecos, los cuales son evidentes en la pantalla como varias sombras grisáceas (negro-blanco) (70). Esas observaciones permiten utilizar mejor los tratamientos de sincronización para determinar el mejor momento para la inseminación artificial (71, 72).

2.5. GnRH como inductor de la ovulación

Por otro lado, la hormona liberadora de Gonadotropinas (GnRH) o sus análogos también han sido utilizados en diversos estudios de sincronización de ondas foliculares y ovulación (73, 74). No obstante, la inducción de la ovulación de folículos menores o iguales a 11 mm resulta en un decremento en la tasa de concepción y en un incremento tardío de muerte embrionaria o fetal (75).

3. HIPÓTESIS

El Cipionato de Estradiol es un sustituto apropiado del Benzoato de Estradiol al momento de insertar un implante intravaginal con progesterona para mejorar las tasas de sincronización y concepción en vacas Cebú (*Bos indicus*).

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Determinar si aplicar 1.0 mg. de Cipionato de Estradiol al momento de insertar un implante liberador de progesterona es suficiente para incrementar las tasas de sincronización y concepción en ganado Cebú.

4.2. Objetivo específico

- Determinar si es posible aumentar la tasa de concepción en vacas inseminadas artificialmente con la ayuda del diagnóstico de un folículo \geq a 14 mm a través de la ultrasonografía y la aplicación de 100 μ g de GnRH en vacas que no muestren signos de estro en un protocolo de sincronización con progesterona y estrógenos.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Localización

El experimento se realizó en el Módulo de Producción de Vaquillas F1 (Holstein x Cebú) del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Dicho módulo se ubica en el kilómetro 3.5 del camino vecinal Martínez de la Torre-Novara, Municipio de Atzalan, Veracruz, México, a 19°50' de latitud Norte y 97°1' de Longitud oeste y una altitud de 150 msnm. La región presenta un clima clasificado como Af(m)(e), cálido húmedo, con una temperatura media anual de 23.4°C, y una precipitación promedio de 1743 mm/año (76).

5.2. Animales experimentales

Se utilizaron 88 vacas Cebú (*Bos indicus*) de las razas Brahman (n = 55), Gyr (n = 20), Indobrasil (n = 2) y Sardo Negro (n = 11), con un promedio de 3.5 ± 3 partos, un peso promedio de 508 kg y una condición corporal promedio de 3.4 en escala 1 a 5, la edad de los animales es entre 4 y 10 años. Los animales pastoreaban en potreros con gramas nativas (*Axonopus spp* y *Paspalum spp*) y en menor proporción estrella de África (*Cynodon plectostachyus*) y pasto Insurgente (*Brachiaria brizantha*) de temporal.

Los animales se suplementaron con sales minerales a razón de 50 gr por vaca por día y alimento concentrado con 13 % de proteína cruda a razón de 450 gr por vaca por día 30 días antes y durante los tratamientos. También se

desparasitaron con Fasinex®¹ a dosis de 12 mg/kg de peso vivo y se les aplicaron vitaminas A, D, E y complejo B² 30 días antes del tratamiento.

5.3. Metodología

El estudio se dividió en dos fases, en la Fase I las 88 vacas fueron divididas aleatoriamente en dos grupos para aplicar dos diferentes tipos de tratamiento, los animales de ambos grupos que no mostraron signos de estro fueron integrados a la fase II de la investigación.

5.3.1. Fase I

5.3.1.1. Tratamiento 1

Se asignaron 45 hembras las cuales se sincronizaron con un dispositivo intravaginal liberador de progesterona, CIDR®³ el cual contiene 1.9 gr de progesterona en silicona estéril, por 8 días, en el día 0 se les aplicó una inyección intramuscular de 1.0 mg de Cipionato de Estradiol, (ECP®⁴) y se hizo una evaluación ultrasonográfica del estado de los ovarios de las vacas. Aquellos animales que presentaron un cuerpo lúteo y/o folículos iguales o mayores a 11 mm fueron considerados como ciclando.

Los animales fueron observados después de retirado el implante dos veces al día de 6 a 9 horas y de 17 a 20 horas durante 3 días para determinar si alguna vaca presentó signos de estro. Se determinó el celo cuando una vaca se dejó montar. Las vacas que se observaron en celo por la mañana fueron inseminadas por la tarde y viceversa.

¹ Novartis Animal Health Inc. Basilea Suiza.

² Univi®t ad₃e con complejo B, Unipharm (International) S.A. Chur Suiza.

³ DEC (Manufacturing) NZ, Hamilton, New Zealand.

⁴ Pharmacia Brasil Ltda. São Paulo, Brasil.

5.3.1.2. Tratamiento 2

Se asignaron 43 hembras a las cuales se les aplicó el mismo procedimiento que en el tratamiento 1, con la única diferencia de que en el día 0 se les aplicó una inyección intramuscular de 2.0 mg de Benzoato de Estradiol (Cidirol®⁵).

5.3.2. Fase II

Todos los animales de los tratamientos 1 y 2 que no presentaron signos de estro a las 48 horas de retirado el implante liberador de progesterona se evaluaron ultrasonográficamente cada 12 horas por 3 ultrasonidos, con la finalidad de observar un folículo dominante mayor o igual a 14 mm, por medio de un equipo Aloka SSD-500 con un transductor de 7.5 MHz transrectal, si existía dicho folículo, se aplicó una inyección intramuscular profunda de 100 µg de GnRH (Ovalyse®⁶) y se inseminó inmediatamente.

5.3.3. Diagnóstico de gestación

Se realizó un diagnóstico de gestación temprano mediante ultrasonografía a los 30 días posteriores a la inseminación artificial.

5.4. Análisis estadístico

La tasa de sincronización del estro, la tasa de concepción de las vacas inseminadas con signos de estro, la proporción de vacas con cuerpo lúteo

⁵ WiriStation Road, New Zealand.

⁶ Parnell Laboratorios Aust Pty. Ltd. Alexandria Australia.

después de retirado el implante, la proporción de vacas que no mostraron signos de estro y que fueron inseminadas, la tasa de concepción de las vacas inseminadas de la fase II, la proporción general de las vacas que fueron inseminadas, y la tasa de concepción general fueron analizadas mediante la prueba de Ji-cuadrada (X^2). Para la comparación de medias de la variable horas de retiro del implante a inicio de estro se utilizo la prueba de t de "student". Para la realización del análisis se utilizó el paquete SPSS 10.0 for Windows (Statistical Package for Social Science).

6. RESULTADOS

6.1. Fase I

La retención del dispositivo intravaginal con progesterona fue del 100% en ambos tratamientos (88/88). La proporción total de animales ciclando fue de 89.8% (n = 79) ya que mostraron un cuerpo lúteo y/o uno o más folículos mayores o iguales a 11 mm en la ultrasonografía realizada al momento de insertar el implante con progesterona. En el tratamiento 1 el 45.5% (n = 40) estaba ciclando y el 5.7% (n = 5) no. Para el tratamiento 2 el 44.3% (n = 39) estaba ciclando y el 4.6% (n = 4) no estaba ciclando (Cuadro 2).

Cuadro 2. Número de vacas ciclando y en anestro al momento de la inserción de implante con progesterona.

Tratamiento	n	Número de vacas ciclando
Tratamiento 1	45	40
Tratamiento 2	43	39
Total	88	79

La proporción total de vacas observadas con signos de estro después de retirado el implante fue de 39.8% (35/88) siendo similar entre los tratamientos 1 y 2 (42.2% vs. 37.2%; P = 0.397) al observarse 19 y 16 vacas con signos de estro para cada grupo respectivamente (Cuadro 3).

Cuadro 3. Número y porcentaje de vacas con signos de estro.

Tratamiento	n	Número de vacas con signos de estro	Porcentaje de vacas con signos de estro
Tratamiento 1	45	19	42.2 ^a
Tratamiento 2	43	16	37.2 ^a
Total	88	35	39.8

Literales iguales indican que no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

Las 35 vacas que mostraron signos de estro tenían un cuerpo lúteo o folículos mayores a 11mm al momento de insertar el implante con progesterona como se observa en el cuadro 4.

Cuadro 4. Características de los ovarios de las vacas con signos de estro al momento de insertar el implante con progesterona.

Tratamiento	Cuerpo Lúteo	Folículos ≥ 11 mm	Total
Tratamiento 1	14	5	19
Tratamiento 2	9	7	16
Total	23	12	35

Las vacas presentaron un promedio global de 45.6 ± 8.7 horas a inicio del estro post-retiro del implante. En el tratamiento 1 las vacas mostraron signos de estro en promedio a las 45.3 ± 6.5 horas, y en el tratamiento 2 en promedio a las 45.9 ± 11.0 horas (Cuadro 5) no habiendo diferencia entre un tratamiento y otro ($P = 0.852$).

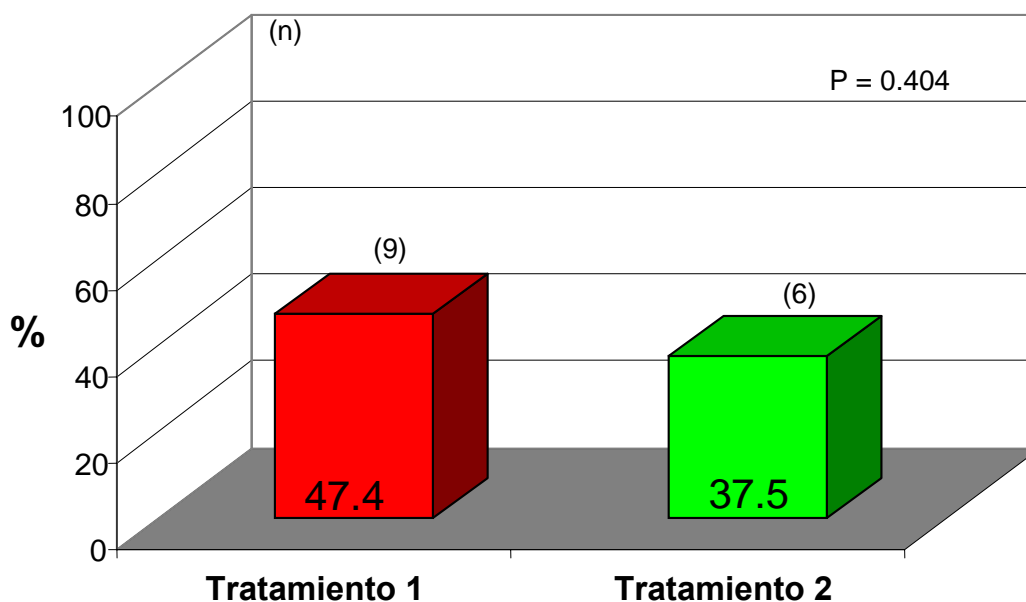
Cuadro 5. Promedio de horas a estro en los diferentes grupos.

Tratamiento	n	Horas promedio a estro post-retiro del implante
Tratamiento 1	21	45.3 ± 6.5 ^a
Tratamiento 2	16	45.9 ± 11.0 ^a

Literales iguales indican que no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

Al realizar el diagnóstico de gestación a las vacas observadas con signos de estro 30 días después de haber sido inseminadas se observó el 42.9% (15/35) gestante, teniendo una proporción similar entre ambos tratamientos (47.4% vs. 37.5%; $P = 0.404$) (Figura 1). Se observaron gestantes 9 de 19 vacas y 6 de 16 vacas respectivamente.

Figura 1. Tasa de concepción de las vacas inseminadas en los 2 tratamientos.



6.2. Fase II

En el cuadro 6 se puede observar la distribución de las vacas que no mostraron signo alguno de estro. En total se le realizó ultrasonografía al 60.2% de las vacas (n = 53). No se observó diferencia estadística significativa entre la proporción de vacas con cuerpo lúteo entre los tratamientos 1 y 2 (15 vs. 8) ($P = 0.091$). Se observaron 4 y 13 vacas con un folículo igual o mayor a 14 mm para los tratamientos 1 y 2 respectivamente mostrando diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.011$). Las 17 vacas con folículos iguales o mayores a 14 mm fueron inseminadas bajo el procedimiento descrito en la metodología, una proporción de 29.4% (5/17) se observó gestante.

Cuadro 6. Distribución de las vacas que no mostraron signos de estro.

Tratamiento	No. de vacas a las que se les hizo ultrasonido	No. De vacas con cuerpo lúteo	No. de vacas con folículos < 14 mm	No. de vacas con folículos \geq 14 mm
Tratamiento 1	26	15 ^a	7	4 ^a
Tratamiento 2	27	8 ^a	6	13 ^b

a, b Los valores en la línea con literales diferentes indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

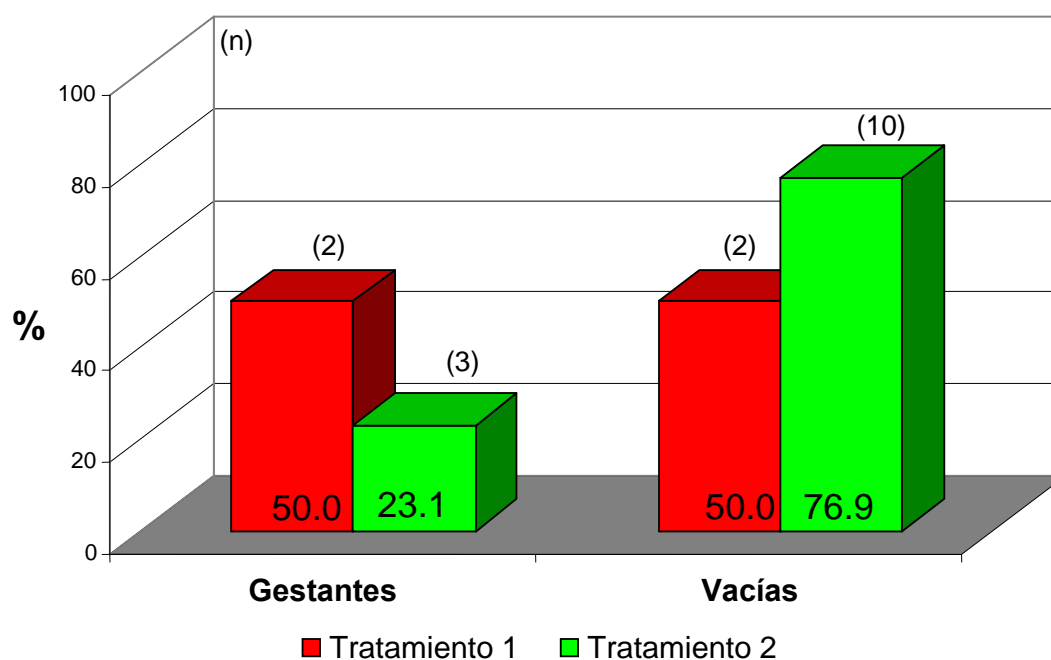
Las características de los ovarios observadas a través de la ultrasonografía aplicada al momento de la inserción del implante con progesterona de las 53 vacas que no mostraron signos de estro se pueden observar en el cuadro 7, nótese que la mayoría tenía un cuerpo lúteo o un folículo igual o mayor a 11 mm.

Cuadro 7. Características de los ovarios de las vacas que no mostraron signos de estro.

Tratamiento	Cuerpo Lúteo	Folículos \geq a 11 mm	Folículos < 11 mm y > de 5 mm	Folículos < 5 mm
Tratamiento 1	19	3	1	3
Tratamiento 2	12	12	2	1

Al comparar los tratamientos no se observó diferencia (50.0% vs. 23.1%; $P = 0.330$) ya que 2 de 4 vacas y 3 de 13 vacas fueron observadas gestantes para los tratamientos 1 y 2, respectivamente (Figura 2).

Figura 2. Porcentaje de vacas gestantes y vacías inseminadas con GnRH.



Las características de los ovarios de las vacas inseminadas con ayuda de la ultrasonografía y con una dosis de GnRH mostraron en el ultrasonido realizado

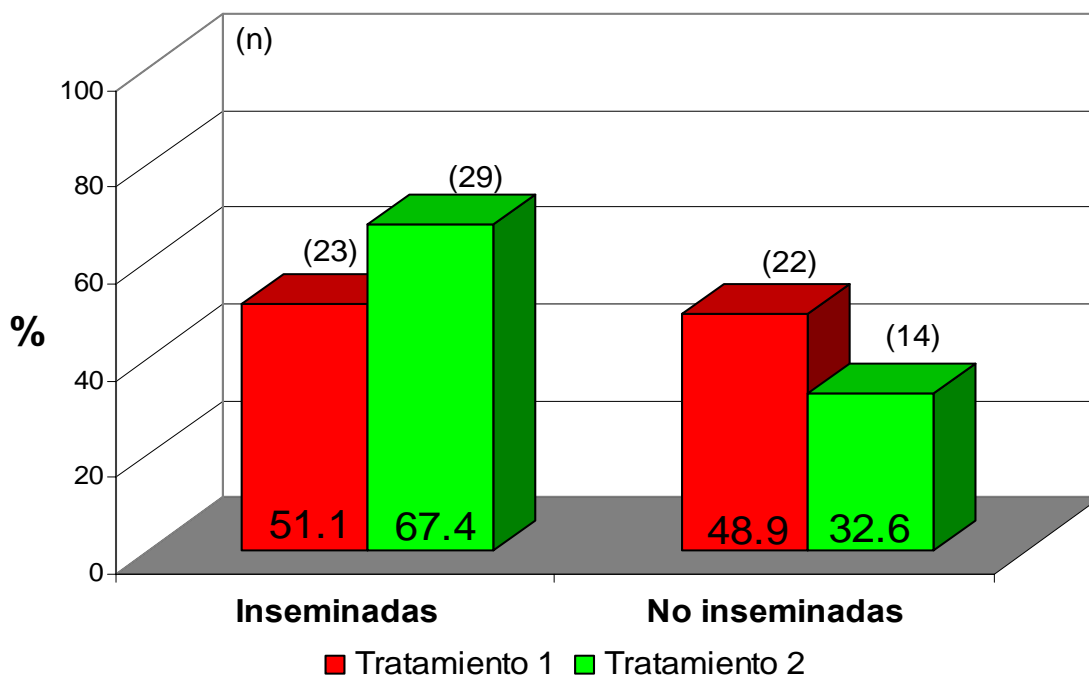
al momento de poner el implante con progesterona un cuerpo lúteo o un folículo mayor a 11 mm como se observa en el cuadro 8.

Cuadro 8. Características de los ovarios de las vacas inseminadas con folículos mayores o iguales a 14 mm.

Tratamiento	Cuerpo Lúteo	Folículos \geq a 11 mm
Tratamiento 1	1	1
Tratamiento 2	4	6

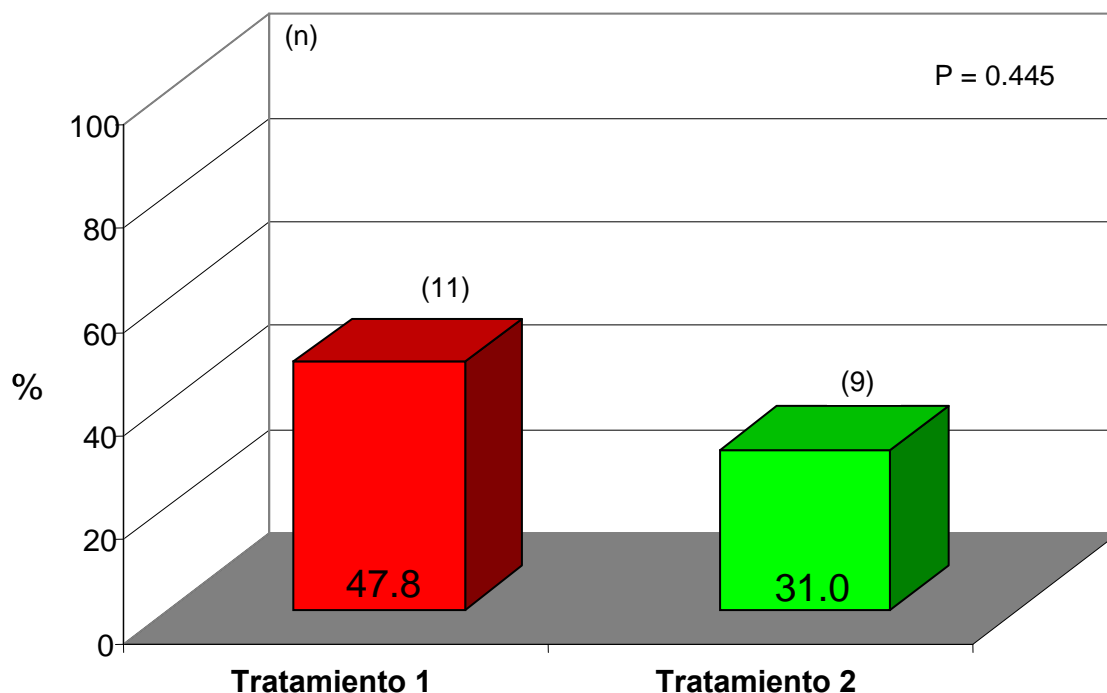
Se inseminó al 59.09% del total de las vacas (n = 52), no mostrándose diferencia entre los porcentajes de ambos tratamientos (51.1 vs. 67.4 P = 0.90) (Figura 3).

Figura 3. Porcentaje de vacas inseminadas y no inseminadas por tratamiento.



La tasa de concepción para este grupo de vacas fue de 38.46%. Al comparar las tasas de ambos tratamientos se observó que se comportaron de forma similar (47.8 vs. 31%; $P = 0.445$) (Figura 4).

Figura 4. Tasa de concepción general para la fase II.



Del total de vacas inseminadas que no se diagnosticaron gestantes en el 71.9% (22/32) el semen fue depositado dentro del útero, 7 en el tratamiento 1 y 16 en el tratamiento 2.

Del total de vacas gestantes en el 85% (17/20) el semen fue depositado dentro de útero, 10 en el tratamiento 1 y 7 en el tratamiento 2.

Al observar los ovarios a través de la ultrasonografía realizada al momento de insertar el implante con progesterona de las vacas que respondieron a los tratamientos de sincronización la presentar signos de estro o un folículo mayor o igual a 14 mm se observó tenían un cuerpo lúteo (17 y 15 en los tratamiento 1 y 2 respectivamente) o un folículo igual o mayor a 11 mm (6 y 14 en los

tratamientos 1 y 2 respectivamente), no siendo así en las vacas que no respondieron a los tratamientos (Cuadro 9).

Cuadro 9. Características de los ovarios de las vacas que no respondieron a los tratamientos.

Grupo	Cuerpo Lúteo	Folículos \geq a 11 mm	Folículos < 11 mm y > de 5 mm	Folículos < 5 mm
Tratamiento 1	16	2	1	3
Tratamiento 2	6	5	2	1

7. DISCUSIÓN

La tasa de sincronización obtenida en el presente trabajo fue inferior a la reportada por Parada (63) quien sincronizo vacas Brahman con CIDR durante 9 días, al momento de insertar el implante aplicó 2.5 mg de VE y al retirarlo aplicó una dosis de 250 UI de gonadotropina de suero de yegua preñada (PMSG), observo el 47.05% destinando una hora de observación a las 6, 12 y 18 horas del día. Por otra parte Díaz (77) observo un 60.8% de vacas con signos de estro utilizando CIDR por un período de 10 y 13 días en vacas y vaquillas, respectivamente con la adición de una cápsula con 10 mg de Benzoato de Estradiol observando a las vacas por 96 horas continuas.

Cavalieri et al (58) obtuvieron una tasa de sincronización de 89.5% (51/57) con norgestomet por un periodo de 10 días y la aplicación de 3 mg de norgestomet y 5 mg de VE en el día 0, además de 400 UI de PMSG, observando a los animales por una hora cada 6 horas. Molina (59) reporto una tasa de sincronización del 85.7% en vacas Cebú utilizando un protocolo de sincronización combinando progesterona y estrógenos que consistió en la aplicación de un implante auricular con norgestomet por un periodo de 9 días donde en el día 0 adiciono una dosis de 3 mg de norgestomet más 5 mg de VE y en el día del retiro del implante aplicó una dosis de 500 UI de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG). En ese mismo estudio obtuvo una tasa de sincronización de 53.8% con el mismo protocolo pero con la única diferencia de que en vez de utilizar un implante nuevo con norgestomet utilizó dos implantes reciclados, ambos resultados los obtuvo al observar a las vacas en periodos que iban de las 6:30 -9:00, 11:00 -13:00 y 18:00 -19:00 horas por tres días.

Miranda (56) y Maquívar (57) quienes trabajaron con el mismo protocolo de sincronización aplicándolo en vacas Brahman reportaron una tasa de sincronización del 88.2% y 75% respectivamente observando a las vacas continuamente por 100 horas.

Por otra parte Galindo (60) reporto que utilizando prostaglandinas en ganado Cebú se obtiene un 74% de vacas con signos de estro. Así mismo, Méndez (62) y Gutiérrez (61) reportaron tasas de sincronización del 85 y 57% respectivamente aplicando prostaglandinas en vacas cebú y observándolas por 100 horas continuas. Lara (78) reporto una tasa de sincronización del 68.4% en vacas F1 Holstein X Brahman tratadas con un implante subcutáneo con norgestomet por un periodo de 9 días y una inyección de 1 mg de BE 24 horas después de la aplicación del implante, pero además al realizar un ultrasonido al momento de poner el implante a las vacas con cuerpo lúteo les aplicó 25 mg de PGF₂α. Alemán y García (79) quienes también trabajaron con vacas F1 Holstein X Cebú reportaron una tasa de sincronización de estros del 58.57% aplicando un protocolo con CIDR por un periodo de 10 días y observando a los animales por 96 horas continuas.

En este sentido, la tasa de sincronización obtenida en este trabajo también fue menor a 93% obtenida por Bridges *et al* (80) quienes también utilizaron CIDR en un periodo de 7 días más la aplicación de una inyección intramuscular de 2 mg de BE al momento de aplicar el implante en ganado de carne. Lammoglia *et al* (81) reportaron una tasa de sincronización de estro del 100% en ganado de carne utilizando CIDR por 7 días más 25 m de prostaglandina F₂α inyectada el día 6 y una inyección intramuscular de 1 mg de BE 24 a 30 horas post-retiro del implante. Martínez *et al* (82) reportaron una tasa de sincronización del 87% en

novillonas cruza de razas de carne sincronizadas con CIDR durante 8 días más una inyección intramuscular de 5 mg de 17β -estradiol y 100 mg de progesterona. Por otro lado Martínez et al (74) al sincronizar novillonas de razas de carne obtuvieron una tasa de sintonización de 92% utilizando el CIDR por un periodo de 7 días más una inyección intramuscular de 2 mg de BE y 50 mg de progesterona, además al retiro del implante se les administraron 500 μ g de cloprostenol (PG; un análogo de $PGF_{2\alpha}$).

Por otro lado la tasa de sincronización del presente trabajo es menor a la reportada por Day et al (83) quienes trabajaron con ganado Holstein aplicándole un protocolo de sintonización en el que utilizó un CIDR durante 9 días más una inyección intramuscular de 2 mg de BE y al retirar el implante aplico una dosis de 500 μ g de cloprostenol (PG).

Cerri et al (84) quienes trabajaron con ganado Holstein utilizaron el ECP en un protocolo de sincronización denominado Selectsynch el cual consiste en pre-sincronizar a las vacas con dos inyecciones de 25 mg de $PGF_{2\alpha}$ con 14 días de intervalo entre una y otra, 14 días después aplicaron 100 μ g de GnRH, 7 días después se les aplicó una inyección de 25 mg de $PGF_{2\alpha}$, 24 horas después aplicaron una inyección de 1 mg de Cipionato de Estradiol (ECP) y se comenzaron a observar 24 horas después de esta última inyección, reportaron una tasa e sincronización del 70.4% la cual es superior a la obtenida en el presente estudio. Pancarci et al (85) reportaron una tasa de sincronización del 86.5% en ganado Holstein utilizando ECP en un protocolo en el que se aplica una inyección de 100 μ g de GnRH, 7 días después una inyección de 25 mg de $PGF_{2\alpha}$ y 24 horas después una inyección de 1 mg de ECP.

En cuanto a la baja tasa de sincronización de estros obtenida en este trabajo, una posible explicación es que la detección de estros no haya sido precisa, es decir, no se observaron vacas con signos de estro que si estaban en estro posiblemente porque las vacas manifestaron conducta estral durante la noche (6, 26). Es bien sabido que en el ganado *Bos indicus* esto resulta particularmente complejo, de este modo Orihuela et al (7) reportaron que en este tipo de ganado un 65% de eficacia, después de 100 horas e observación continua. Algunos autores atribuyen este hecho a pautas de conducta propias de esta especie (12) y a influencias de jerarquía social en el hato (61).

El promedio general de horas a inicio del estro post-retiro del implante con progesterona obtenido en el presente trabajo fue similar en ambos tratamientos, sin embargo, cabe destacar que en el tratamiento 1 las vacas presentaron signos de estro en un intervalo de tiempo menor. Este promedio concuerda con lo reportado por Cavalieri et al (86) quienes al sincronizar vacas de la raza Brahman con un implante auricular con norgestomet por un periodo de 10 días y una inyección intramuscular de 3 mg de norgestomet y 5 mg de VE reportaron un promedio de 45.6 horas con un rango de 37.3 a 86.3 horas y una desviación estándar de 13.88 horas. Sin embargo, el promedio de horas y la desviación estándar resulto mayor a la del tratamiento 1 del presente trabajo. Así mismo, Gutiérrez (61) reporto un promedio de 67.2 horas post-retiro del implante, mostrándose muy superior al promedio general de este trabajo.

En ganado F1 Alemán y García (79) reportaron un intervalo de 48.02 ± 19.21 horas post-retiro del CIDR. En ganado productor de leche Day et al (83) reportaron un intervalo de 42.48 ± 4.32 horas y Díaz et al (77) reportaron un intervalo 29.0 ± 1.8 horas posteriores a la aplicación del ECP. Por otro lado, en

ganado de carne se han reportado intervalos de retiro del implante a inicio de estro variados, Lafri et al (20) reportaron un intervalo de 31.9 ± 0.7 horas en un intervalo que va de 29 a 36 horas utilizando el CIDR por un periodo de 5 días. Martínez et al (74) reportaron un intervalo de 47.8 ± 8.1 horas, Martínez et al (45) reportaron un intervalo de 52.8 ± 4.8 horas. Lammoglia et al (81) reportaron que todas las vacas presentaron signos de estro antes de las 48 horas post-retiro del CIDR.

De acuerdo con las características de los ovarios observadas al momento de poner el implante con progesterona de las vacas que se diagnosticaron gestantes después de haber sido inseminadas a calor detectado puede suponerse que se encontraban en la parte final del diestro o en proestro (87) por lo que gracias a la progesterona contenida en el CIDR suprimió la ovulación y una vez retirada los folículos de dichas vacas completaron su desarrollo y ovalaron sincrónicamente (16, 37) sin que el efecto de los estrógenos fuese necesario.

Los resultados del presente estudio muestran que aunque no hubo diferencia significativa entre el número de vacas con cuerpo lúteo después de haber retirado el implante con progesterona entre los tratamientos 1 y 2, la aplicación de 1 mg de Cipionato de Estradiol es menos eficaz que la aplicación de 2 mg de Benzoato de Estradiol para provocar la lisis del cuerpo lúteo en los dos primeros tercios de la fase del metaestro si se aplican al momento de poner un dispositivo con progesterona.

Por otro lado, la ultrasonografía ofrece grandes ventajas ya que al tener la oportunidad de monitorear los ovaros de las vacas (66, 67, 68, 69) que no mostraron signos de estro se puede saber cual fue el mejor momento para su

inseminación (71, 72), por lo que en el presente trabajo no se utilizaron 36 dosis de semen en vacas que tenían un cuerpo lúteo o folículos inmaduros y que no quedarían gestantes si se compara con el uso de protocolos de inseminación a tiempo fijo.

Las tasas de concepción obtenidas en este trabajo son menores a la reportada como promedio para vacas ciclando y no ciclando de 43% por Galina et al (36), sin embargo, se muestra superior a el 25.4% reportada por Díaz (77) en ambos tratamientos. Bó et al (14) reportaron una tasa del 38.9% en vacas Nelore lo que supera a la obtenida en el tratamiento 2, donde también se utilizó la combinación CIDR durante un periodo de 8 días más la inyección de 1 mg de BE al momento de retirar el implante, aunque, por otro lado es superior en ambos tratamientos al 26.7% obtenido en vacas Braford bajo el mismo protocolo reportada en ese mismo trabajo. Parada (63) reportó una tasa del 42% en ganado cebú en anestro posparto la cual es menor a la del tratamiento 1 pero superior a la del tratamiento 2 obtenidas al final del presente trabajo.

Baruselli et al (27) utilizando CIDR combinado con BE en vacas en anestro de la raza Nelore reportó una tasa del 38.9 % y en vacas en anestro de la raza Brangus reportó una tasa de concepción del 68.2% la cual es muy superior a la del presente trabajo en ambos tratamientos. En este sentido, Molina (59) reportó una tasa de concepción del 22.4%, la cual es menor a la obtenida en el presente trabajo para ambos tratamientos.

Lara (78) obtuvo una tasa de concepción de 36.8% en ganado F1 Holstein x Cebú. En ganado de carne donde se sincronizó con la combinación CIDR más BE se han reportado tasas de concepción de 52% (81), 62.6% (74), 60% (80) y hasta de 80% (82) las cuales superan a las obtenidas en este trabajo. Por otro

lado, en ganado productor de leche, utilizando la misma combinación, se han reportado tasas de 61.7% (83), aunque también han reportado resultados de 36.5% (23), inferior a la tasa obtenida en el tratamiento 1.

La tasa de concepción obtenida en el tratamiento 1 del presente trabajo es inferior al 66.1% reportada por Ambrose *et al* (88) quienes aplicaron un protocolo donde utilizaron CIDR por un periodo de 7 días, al momento de la aplicación del CIDR (D0) aplicaron una inyección intramuscular de 0.5 mg de ECP, 7 días después aplicaron 25 mg de PGF, 24 horas después 0.5 mg de ECP en ganado productor de leche en un programa de inseminación a tiempo fijo el día 10. Esto puede deberse básicamente a que se aplicaron prostaglandinas lo que provoco la lisis del cuerpo lúteo (26, 36, 37), además de una segunda dosis de ECP 24 horas después de retirado el CIDR lo que provoca una mejor eficacia en la sincronización de la onda folicular (21) y en presente trabajo hubo un importante número de vacas con un cuerpo lúteo después de 48 horas de haber retirado el CIDR y no se aplico una segunda dosis de ECP.

Por otro lado utilizando ECP pero sin combinarlo con un CIDR se han reportado tasas de 28.6% (85) en vacas inseminadas a calor detectado y del 54.51% en vacas bajo un protocolo de inseminación a tiempo fijo (84).

Basado en reportes previos sobre la eficacia de una dosis de 0.5 mg de ECP sobre la sincronización (89), nuestra expectativa era que esas bajas dosis funcionaran de la misma manera en que funciona una dosis de 2 mg de BE para sincronizar el estro y la ovulación en ganado Cebú, sin embargo, aunque el tratamiento 1 obtuvo una mayor tasa de concepción que el tratamiento 2, otros trabajos han reportado un mejor resultado con 2.0 mg de BE en este tipo

de ganado, y aunque también se han reportado tasas de concepción elevadas utilizando ECP cabe recordar que todas fueron en ganado *Bos taurus* el cual no se comporta de la misma manera que el ganado Cebú (5, 9, 25).

8. CONCLUSIONES

Se rechaza la hipótesis de que el Cipionato de Estradiol es un sustituto apropiado del Benzoato de Estradiol al momento de insertar un implante intravaginal con progesterona para mejorar las tasas de sincronización y de concepción en ganado Cebú (*Bos indicus*).

El uso de herramientas reproductivas como el registro de un folículo mayor o igual a 14 mm a través de la ultrasonografía y una inyección de 100 µg de GnRH no aumenta la tasa de concepción en hembras Cebú que no muestren signos de estro en un protocolo de sincronización con progesterona y estrógenos.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Vaccaro L. Some aspects of the Performance of purebreed and crossbreed dairy cattle in the tropics. *Animal Breeding Abstracts* 1973;41:171-191.
2. Galina CS, Arthur GH. Review of Cattle Reproduction in the Tropics. Part 2. Parturition and Calving Intervals. *Animal Breeding Abstracts* 1989;57:679-686.
3. Vale-Filho VR, Pinheiro LE, Basrur PK. Reproduction in Zebu Cattle In: *Current Therapy in Theriogenology* 2. Morrow DA editor. United States of America. W.B. Sanders Company, 1986:437-442.
4. Landivar C, Galina CS, Duchateau A, Navarro F. Fertility trial in Zebu cattle a natural or controlled estrus with Prostaglandin F2 Alpha, comparing Natural Mating with Artificial Insemination. *Theriogenology* 1985;23:421-429.
5. Lamothe C, Fredriksson G, Kindahl H. Reproductive performance of Zebu cattle in México. 1. Sexual Behavior and Seasonal influence on Estrous Cyclicity. *Theriogenology* 1991;36:887-895.
6. Pinheiro OL, Barros CM, Figueiredo RA, do-Valle ER, Encarnação RO, Padovani CR. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with Prostaglandin F2 α or Norgestomet and Estradiol Valerate. *Theriogenology* 1998;49:667-681.
7. Orihuela A, Galina CS Escobar J, Riquelme E. Estrous behavior following Prostaglandin F2 α injection in Zebu cattle under continuous observation. *Theriogenology* 1983;19:795-809.
8. Johnson SK. Possibilities with today's reproductive technologies. *Theriogenology* 2005;64:639-656.

9. Galina CS, Pérez E, Baca JR. Comportamiento reproductivo de vacas *Bos taurus* x *Bos indicus* bajo programas de Inseminación Artificial a estro sincronizado y natural en condiciones del trópico seco de Costa Rica. *Veterinaria México* 1998;29:67-73.
10. Randel RD, LH and ovulation in Brahman, Brahman x Hereford and Hereford heifers. *Journal of Animal Science* 1989;43:300 (abstract).
11. Srivastava SK, Sahni KL, Mohan G. Behavioural Symptoms and conception in rural cows and buffaloes under tropical condition. *Indian Veterinary Journal* 1998;75:43-45.
12. Galina CS, Calderon A. and M McCloskey. Detection of signs of oestrus in the Charolais cow and its Brahman cross under continuous observation. *Theriogenology* 1982;17:483-498.
13. Vaca LA, Galina CS, Fernandez-Baca S, Escobar FJ, Ramírez B. Oestrus cycles, Oestrus and ovulation of the Zebu in the Mexican tropics. *Veterinary Record* 1985;117:434-437.
14. Perry GA, Smith MF, Patterson DJ. Evaluation of a fixed-time artificial insemination protocol for postpartum suckled beef cows. *Journal of Animal Science* 2002;80:3060-3064.
15. Odde KG. A Review of Synchronization of Estrus in Postpartum Cattle. *Journal of Animal Science* 1990;68:817-830.
16. Bó GA, Basurelli PS, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tríbulo R, Tríbulo H, Mapletoft RJ. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 2002;57:53-72.

17. Macmillan KL, Burke CR. Effects of Oestrus cycle control on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science* 1996;42:307-320.
18. Bó GA, Cutaia L, Tríbulo R. Tratamientos hormonales para inseminación a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Segunda Parte. *Taurus* 2002;15:17-32.
19. Martinez MF, Adams GP, Katelic JP, Bergfelt DR, Mapletoft RJ. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology* 2000;54:757-769.
20. Lafri M, Ponsart C, Nibart M, Durand M, Morel A, Jeanguyot N, Badinand F, De Mari K, Humblot P. Influence of CIDR treatment during superovulation on embryo production and hormonal patterns in cattle. *Theriogenology* 2002;58:1141-1151.
21. Colazo MG, Kastelic JP, Mapletoft RJ. 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.
22. Orihuela A. Some factors affecting the behavioural manifestation of oestrus in cattle: a review. *Applied Animal Behaviour Science* 2000; 70:1-16.
23. Galvão KN, Santos JE, Juchem SO, Cerri RL, Coscioni AC, Villaseñor M. Effect of addition of a progesterone intravaginal insert to a timed insemination protocol using Estradiol cypionate on ovulation rate, pregnancy rate, and late embryonic loss in lactating dairy cows. *Journal of Animal Science* 2004;82:3508-3517.
24. Madalena FE, Hinojosa C. Reproductive performance of Zebu compared with Charolais x Zebu females in a humid tropical environment. *Animal Production* 1976;23:55-62.

25. Galina CS, Arthur GH. Review of Cattle Reproduction in the Tropics. Part 5. Fertilization and Pregnancy. *Animal Breeding Abstracts* 1990;58:805-813.
26. Galina GS, Orihuela A, Rubio I. Behavioral trends affecting estrous detection in Zebu cattle. *Animal Reproduction Science* 1996;42:465-470.
27. Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bó GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science* 2004;82-83:479-486.
28. Bó GA, Baruselli PS, Martinez MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science* 2003;78:307-326.
29. Segerson EC, Hansen TR, Libby DW, Randel RD, Getz WR. Ovarian and uterine morphology and function in Angus and Brahman cows. *Journal of Animal Science* 1984;59:1026-1046.
30. Munro RK. The superovulatory response of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle following treatment with follicle stimulating hormone and progesterone. *Animal Reproduction Science* 1986;11:91-97.
31. Stagg K, Diskin MG, Sreenan JM, Roche JF. Follicular development in long-term anestrous suckled beef cows fed two levels of energy postpartum. *Animal Reproduction Science* 1995;38:49-61.
32. Ruiz-Cortez ZT, Olivera-Angel M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. *Animal Reproduction Science* 1999;54:211-220.

33. Kiracofe GH. Estrous synchronization in beef cattle. In: Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian. 1988 Vol. 10, No.1, Article No. 5.
34. Zarco L. Factores que afectan los resultados de la inseminación artificial en el bovino lechero. *Veterinaria México* 1990;21:235-240.
35. Medrano EA, Hernández O, Lamothe C, Galina CS. Evidence of asynchrony in the onset of signs of Oestrus in zebu cattle treated with a progestagen ear implant. *Research in Veterinary Science* 1996;60:51-54.
36. Galina CS, Arthur GH. Review of Cattle Reproduction in the Tropics. Part 4. Fertilization and Pregnancy. *Animal Breeding Abstracts* 1990;58:697-707.
37. Porras A, Galina CS. Utilización de progestágenos para la manipulación de ciclo estral bovino. *Veterinaria México* 1992;23:31-36.
38. Martínez MF, Adams GP, Bergfelt D, Kastelic JP, Mapletoft RJ. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in heifers. *Animal Reproduction Science* 1999;57:23-33.
39. Pursley JR, Kosorok MR, Wiltbank MC. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *Journal of Animal Science* 1997;80:301-306.
40. Martínez MF, Kastelic JP, Adams GP, Cook RB, Olson WO, Mapletoft RJ. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology* 2002;57:1049-1059.
41. Patterson DJ, Kiracofe GH, Stevenson JS, Corah LR. Control of the bovine estrous cycle with melengestrol acetate (MGA): A review. *Journal of Animal Science* 1989;67:1895-1906.

42. Wishart DF. Identification of steroids of high activity for control of the oestrus cycle in the dairy heifer. *Journal of Reproduction and Fertility* 1972;30:333-334.
43. Barnes MA, Kazmer GW, Bierly ST. Gonadotropic and ovarian hormone response in dairy cows treated with Norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology* 1981;16:13-25.
44. Hoagland TA, Barnes MA. Serum and milk progesterone in Synchro-mate B treated postpartum beef cows. *Theriogenology* 1984;22:247-257.
45. Kazmer GW, Barnes MA, Halman RD. Endogenous hormone response and fertility in dairy heifers treated with Norgestomet and estradiol valerate. *Journal Animal Science* 1981;53:1333-1340.
46. Pratt SL, Spitzer JC, Burns GL, Plyler BB. Luteal function, estrus response, and pregnancy rate after treatment with norgestomet and various dosages of estradiol valerate in suckled cows. *Journal of Animal Science* 1991;69:2721-2726.
47. Fanning MD, Spitzer JC, Burns GL, Plyler BB. Luteal function and reproductive response in suckled beef cows after metestrus administration of a norgestomet implant and injection of estradiol valerate with various dosages of injectable norgestomet. *Journal of Animal Science* 1992;70:1352-1356.
48. Mihm M, Baguisi A, Boland MP, Roche JF. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*. 1994;102:123-130.
49. Rathbone JM, Bunt RR, Ogle RC, Burggraal S, Macmillan KL, Burke RC, Pickering LK. Reengineering of a commercially available bovine intravaginal

- insert (CIDR insert) containing progesterone. Journal of Controlled Released 2002;85:105-115.
50. Macmillan KL, Taufa VK, Barnes DR, Day AM. Plasma progesterone concentrations in heifers and cows treated with a new intravaginal device. Animal Reproduction Science 1991;26:25-40.
51. Martínez MF, Kastelic JP, Bó GA, Caccia M, Mapletoft RJ. Effects of Estradiol some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. Theriogenology 2005;86:37-52.
52. Bó GA, Pierson RA, Mapletft RJ. The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and super-ovulatory response in cows with Syncro-Mate B implants. Theriogenology 1991;36:169:186.
53. Colazo MG, Sefchek M, Illuminati H, Meglia G, Schmitdt E, Bó GA. Fixed-time artificial insemination in beef cattle using CIDR-B devices, progesterone and Estradiol benzoate. Theriogenology 1999;51:404 (abstract).
54. Anta E, Rivera JA, Galina CS, Porrás A, Zarco L. Análisis de la información publicada en México sobre eficiencia reproductiva de los bovinos. II. Parámetros reproductivos. Veterinaria México 1989;20:11-18.
55. Rusell JM, Galina CS. Research into cattle reproduction in the tropics: Part 2, A Third World prerogative. Animal Breeding Abstracts 1987;55:819-828.
56. Miranda BF. Efecto del amamantamiento, condición corporal y sincronización del estro sobre la eficiencia reproductiva en vacas Cebú (Bos indicus) en el trópico húmedo de México. Tesis de licenciatura. UNAM-FMVZ. México 2000.
57. Maquívar LM. Conducta estral, actividad folicular y concentraciones de hormona Leuteinizante (LH) y progesterona (P4) en vacas Brahman posterior a

- u programa de sincronización. Tesis de licenciatura. UNAM-FMVZ. México 2001.
58. Cavalieri J, Fitzpatrick LA. Oestrus detection techniques and insemination strategies in Bos indicus heifers synchronized with norgetomet-oestradiol. Australian Veterinarian Journal 1995;72:177-182.
59. Molina MO. Sincronización de estros en vacas cebú mediante implantes reciclados de progestágenos y la posterior aplicación de prostaglandinas. Tesis de licenciatura. UNAM-FMVZ. México 2001.
60. Galindo MF. Análisis de la fertilidad obtenida con el uso de prostaglandinas para la sincronización de calores de los bovinos productores de leche. Tesis de licenciatura. UNAM-FMVZ. México 1990.
61. Gutiérrez AC. Influencia de la jerarquía social del hato sobre la presentación del estro en novillotas cebú. Tesis de licenciatura. UNAM-FMVZ. México 1990.
62. Méndez PB. Utilización de la PGF2 alfa (Lutalyse) a una sola dosis de 5 ml y a 2 aplicaciones de 2.5 ml con un intervalo de 12 hrs para comparar el tiempo, intensidad y uniformidad de la presentación de celos. Tesis de licenciatura. UV. Tuxpam Veracruz, México 1991.
63. Parada CM. Relación entre fertilidad y características del cuerpo lúteo en vacas cebú (Bos indicus) en anestro tratadas con CIDR-B y PMSG. Tesis de licenciatura. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. Bogota, Colombia 2002.
64. Bridges PJ, Lewis PE, Wagner WR, Inskeep EK. 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.

65. Porras AA. Control del estro en ganado *Bos indicus* en condiciones tropicales: Efecto de la utilización del Norgestomet combinado con estrógenos. Tesis de maestría. UNAM-FMVZ. México 1990.
66. Gutiérrez AC, Zarco L, Galina CS, Rubio I, Basurto H. Predictive value of palpation per rectum for detection of the CL in zebu cattle as evaluated by Progesterone concentrations and ultrasonography. *Theriogenology* 1996;46:471-479.
67. Galina CS, Orihuela A, Rubio I. Behavioural trends affecting oestrus detection in Zebu cattle. *Animal Reproduction Science* 1996;42:465-470.
68. Smith ST, Ward WR, Dobson H. Use of ultrasonography to help to predict observed oestrus in dairy cows after the administration of prostaglandin F_{2α}. *The Veterinary Record* 1998;142:271-274.
69. Garcia A. Van-Der-Weijden GC, Colenbrander B, Bevers MM. Monitoring follicular development in cattle by real-time ultrasonography: a review. *The Veterinary Record* 1999;145:334-340.
70. Abdullahi YR, Toshiniko N. Bovine reproductive ultrasonography: A review. *Journal Reproduction Development* 1999;45:13-28.
71. Hunter RHF. Fertility in Cattle: Basic Reason why Late Insemination must be avoided. *Animal Breeding Abstracts* 1985;53:83-87.
72. Zarco L, Hernández J. Momento de ovulación efecto del intervalo entre el inicio del estro y la inseminación artificial sobre el porcentaje de concepción de vaquillas Holstein. *Veterinaria México* 1996;27: 279-283.
73. Vasconcelos JL, Silcox RW, Rosa GJ, Pursley JR, Wiltbank MC. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after

- synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 1999;52:1067-1078.
74. Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP, Mapletoft RJ. The use of a progesterone-releasing (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH, or Estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. *Journal of Animal Science* 2002;80:1746-1751.
75. Perry GA, Smith MF, Lucy MC, Green JA, Parks TE, MacNeil MD, Roberts AJ, Geary TW. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *PNAS* 2005;102:5268-5273.
76. García E., Modificaciones al sistema de clasificación climatológica de Köpen. 4^{ta} Edición, México D.F., Instituto de Geografía. UNAM, 1988.
77. Díaz GS, Galina CS, Basurto CH, Ochoa GP. Effect of natural progesterone with and without estradiol benzoate on the onset signs of estrus, ovulation and pregnancy in *Bos indicus* cattle raised under Mexican Tropical conditions. *Archivos de Medicina Veterinaria* 2002;34:283-286.
78. Lara BO. Evaluación del efecto del Benzoato de Estradiol sobre los folículos dominantes en un programa de sincronización con norgestomet y gonadotropina coriónica equina en vacas F1 Holstein X Brahman en el trópico. Tesis de licenciatura. UNAM-FMVZ. México 2002.
79. Alemán SE, García BA. Evaluación del diámetro folicular sobre la hora de inicio de celo sincronizado en ganado F1 (Holstein X Cebú). Tesis de licenciatura. ITA-4. Tamaulipas. México 2004.

80. Bridges PJ, Lewis PE, Wagner WR, Inskeep EK. 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.
81. Lammoglia MA, Short RE, Bellows SE, Bellows RA, MacNeil MD, Hafs HD. Induced and synchronized estrus in cattle: Dose Titration of Estradiol Benzoate in peripubertal heifers and postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and Prostaglandin F_{2α}. *Journal of Animal Science* 1998;76:1662-1670.
82. Martínez MF, Adams GP, Kastelic JP, Bergfelt DR, Mapletoft RJ. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology* 2000;54:757-769.
83. Day ML, Burke CR, Taufa VK, Day AM, Macmillan KL. The strategic use of estradiol to enhance fertility and submission rates of progestin-based estrus synchronization programs in dairy herds. *Journal of Animal Science* 2000;78:523-529.
84. Cerri RL, Santos JE, Juchem SO, K. N. Galvão KN, Chebel RC. Timed Artificial Insemination with Estradiol Cypionate or Insemination at Estrus in High-Producing Dairy Cows. *Journal Dairy Science* 2004;87:3704–3715.
85. Pancarci SM, Jordan ER, Risco CA, Schouten MJ, Lopes FL, Moreira F, Thatcher WW. Use of Estradiol Cypionate in a Presynchronized Timed Artificial Insemination Program for Lactating Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science* 2002;85:122-131.

86. Cavalieri J, Rubio I, Kinder JE, Entwistle KW, Fitzpatrick LA. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. *Theriogenology* 1997;47:801-814.
87. Hernández CJ. Ciclo estral en la hembra bovina. *Mejoramiento animal. Reproducción Bovinos. UNAM-FMVZ. División Sistema e Universidad Abierta y Educación a Distancia. México* 1999:23-31.
88. Ambrose JD, Kastelic JP, Rajamahendran R, Aali M, Dinn N. Progesterona (CIDR)-based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiol cypionate for dairy heifers: Ovarian and endocrine responses and pregnancy rates. *Theriogenology* 2005;64:1457–1474.
89. Lopes FL, Arnold DR, Williams J, Pancarci SM, Thatcher MJ, Drost M. Use of estradiol cypionate for timed insemination. *Journal of Animal Science* 2000;78(Suppl. 1):216.