

**Efecto del momento de celo sobre la tasa de
preñez en un protocolo J-Synch con
inseminación artificial a celo observado**

María Fernanda Munguía Vásquez

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras
Noviembre, 2018

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Efecto del momento de celo sobre la tasa de preñez en un protocolo J-Synch con inseminación artificial a celo observado

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera Agrónoma en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

María Fernanda Munguía Vásquez

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2018

Efecto del momento de celo sobre la tasa de preñez en un protocolo J-Synch con inseminación artificial a celo observado

María Fernanda Munguía Vásquez

Resumen. El objetivo de este estudio es presentar las diferentes fases del celo como un factor determinante del éxito en un programa de inseminación. Determinar la eficiencia de los parches de detección de celo Estrotect™, como herramienta confiable en la detección de celo. Adicionalmente, se evaluó el momento de la inseminación artificial (IA) con respecto a la presentación de celo (48, 60, 72 horas e inseminación a tiempo fijo, IATF), al retiro del dispositivo intravaginal bovino (DIB®) y la influencia del tamaño del folículo (≥ 11 mm y < 11 mm) al momento de la inseminación. Los grupos se dividieron en dos para la detección de celo con parches Estrotect™; utilizando parches completos (n=97) y parches medios (n=90). Se obtuvo un mayor porcentaje de preñez en las vacas que presentaron celo a las 60 horas y en las que contaban con folículos ≥ 11 mm. Los parches no presentaron diferencia significativa ($P > 0.05$) en la capacidad de detectar celo, pero presentaron si confiabilidad en su uso.

Palabras claves: Parches completos, parches medios, porcentaje de preñez, tamaño de folículo.

Abstract. The objective of this study presents many phases within the appearance of heat with a determining fact of success in an insemination program. The efficiency of the Estrotect™ heat detection patches as a trustworthy tool was evaluated. In addition, the time of artificial insemination (IA) in regard of the heat appearance (48, 60, 72 hours and fixed time artificial insemination; FTAI), the removal of the bovine intravaginal device (DIB®), and the influence of the follicle size (≥ 11 mm y < 11 mm) at the inseminating time. The groups were divided in two for the heat detection with Estrotect™ patches; using entire patches (n=97) and half patches (n=90). As a result, the cows that showed heat 60 hours after the removal of the DIB® and a follicle size ≥ 11 mm had a higher pregnancy rate. The Estrotect™ patches didn't show any significant difference ($P > 0.05$) for the heat detection but they indicate to be a trustworthy tool.

Key words: Entire patch, follicle size, half patch, heat appearance, pregnancy rate.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros y Figura	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	6
4. CONCLUSIONES.....	9
5. RECOMENDACIONES.....	10
6. LITERATURA CITADA	11

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURA

Cuadros	Página
1. Porcentaje de preñez en vacas inseminadas a diferentes tiempos post retiro del implante	6
2. Porcentaje de preñez en vacas inseminadas a diferentes tiempos post retiro del implante DIB® para las diferentes clasificaciones foliculares.....	7
3. Numero de servicios por vaca preñada para los diferentes tiempos de celo post retiro de DIB® y la clasificación folicular en vacas.	7
4. Correlacion de la preñez con tiempo de celo y tamaño de folículo.....	8
5. Análisis de frecuencia de activación por los dos tipos de parches	8

Figura	Página
1. Protocolo J-Synch.....	3

1. INTRODUCCIÓN

Para obtener la reproducción óptima de un hato ganadero es necesario el conocimiento de los principios básicos y los factores que influyen en la reproducción. Es indispensable la comprensión de las estrategias de manejo empleadas para lograr los objetivos, al igual que nuevas tecnologías y avances que pueden ser practicados en campo (Barrell 1984). La Inseminación Artificial (IA) es un proceso en el cual se recolectan los espermatozoides del macho y son depositados manualmente en el tracto reproductivo de la hembra. Los beneficios potenciales que puede generar son: incrementar la eficiencia de uso del toro, incrementar los potenciales de selección genética, disminuir costos, mejorar la seguridad del animal y de la finca, reduciendo también transmisión de enfermedades (IAEA Programme 2017).

El éxito de la inseminación artificial depende de una crítica observación que se debe hacer a las vacas para determinar si están en celo en el momento oportuno ya que una inseminación tardía o temprana afecta en la concepción. La detección de celos es la clave para un programa de reproducción (Rao *et al.* 2013). Un proceso que consume mucho tiempo y se repite hasta cinco veces diarias todos los días mientras se realiza la IA. Los rangos de detección de celos son muy variables entre hatos, normalmente oscilan entre rangos de 30 a 70% y son detectados por el designado a la tarea (Diskin y Sreenan 2000).

Además de observación visual, existen muchas ayudas disponibles para la detección de celo. Parte de estas ayudas son pintura o crayones en la inserción de la cola, parches de pintura que se pegan y detectores electrónicos de presión-sensibilidad de monta. Todos estos métodos de ayuda tienen ventajas y desventajas, pero se basan en que la hembra (vaca) se deje montar por otros animales en el hato (Morgan y Dawson 2008). La pintura en la inserción de la cola es un método muy efectivo en la identificación del estro, pero comportamientos como lamer o frotar remueven la pintura y pueden generar falsos positivos (Cardoso y Skenandore 2017).

Uno de los métodos auxiliares de detección de estro se basa en la facilitación de la visualización de los animales que aceptaron monta por el cambio de color de un dispositivo (parche) llamado Estrotect™. Este dispositivo rectangular de 11 cm × 5 cm se adhiere a la columna vertebral cerca de la región de transición de las vértebras lumbares sacras. El dispositivo tiene su color gris inicial, siendo alterado por movimientos de fricción durante la aceptación de la monta, así, la vaca estará lista para ser inseminada cuando el color base fluorescente del adhesivo empieza a ser dominante, indicando que el animal aceptó monta varias veces (Bonato *et al.* 2012). La aplicación de pelar y pegar de Estrotect™ lo han hecho más popular que los parches que requieren adhesivo (Johnson y Jaeger 2015).

Para la detección de celo también se utiliza la ecografía, una técnica que emplea ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes de los tejidos blandos y órganos internos, las cuales se pueden visualizar a través de la pantalla del ecógrafo. Su aplicación confirma o desestima la valoración realizada por palpación rectal, constituyendo un medio de diagnóstico de certeza en la dinámica de las ondas foliculares y desarrollo del cuerpo lúteo (Ribadu *et al.* 1999).

La inseminación artificial ha sido muy utilizada para la reproducción de genética de alto valor. Existen factores como la nutrición, manejo y la eficiencia de detección de celo que afectan el amplio uso de esta tecnología en la mayoría de operaciones con ganado. La alternativa más útil para incrementar el número de vacas inseminadas es aplicar protocolos que permitan la inseminación artificial sin necesidad de estar detectando celo (Bó y Baruselli 2014). La mayoría de estos protocolos involucran el uso de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) al tiempo de remoción del dispositivo liberador de progesterona. El efecto más importante que el eCG tiene es la estimulación del crecimiento folicular y subsecuentemente incrementa la ovulación (Bó *et al.* 2016).

El propósito de la investigación fue comparar el desempeño reproductivo de vacas inseminadas a celo detectado (48 y 60 horas post retiro de DIB[®]) y vacas inseminadas a tiempo fijo (72 horas post retiro del DIB[®]), con o sin presentación de celo a las 72 horas. Determinar la correlación del tamaño del folículo en el porcentaje de preñez en los diferentes tiempos de Inseminación Artificial (IA) a celo detectado (48 y 60 horas) o a tiempo fijo (72 horas) y evaluar la eficacia del parche Estrotec[™] en la detección de celo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Hacienda Tapalapa, ubicada en La Flecha, Santa Bárbara, Honduras, en el km 68.5 carretera San Pedro Sula-Copán. La precipitación pluvial anual es de 1600 mm, siendo los meses más secos marzo y abril. Encontrándose a 350 msnm con una temperatura promedio de 27 °C, y humedad relativa promedio de 80%. La clasificación de la región según Holdridge es de bosque húmedo tropical (Cuestas y Alvarado 2002).

Para llevar a cabo el proyecto se comenzó a trabajar con 185 vacas de las razas Brahman, Santa Gertrudis y sus respectivos encastes, en pastoreo rotacional y suplementadas con sales minerales (Nutriplex[®]), con 30 a 120 días post parto con ternero al lado, horas y vaquillas; todas sincronizadas con Dispositivos Intravaginales Bovinos (DIB[®]) (Figura 1); un dispositivo intravaginal de silicona inerte impregnado con 1 g de progesterona natural de liberación controlada (Progesterona 1 g/dispositivo) (Syntex[®] S.A. 2017).

Las vacas fueron llevadas al corral sin provocar ningún tipo de estrés y se revisaron en una Trampa Priefert realizando una ecografía transrectal con “ReproScan LED”; una unidad portátil de ecografía con una sonda rectal convexa de 4.0 MHz.

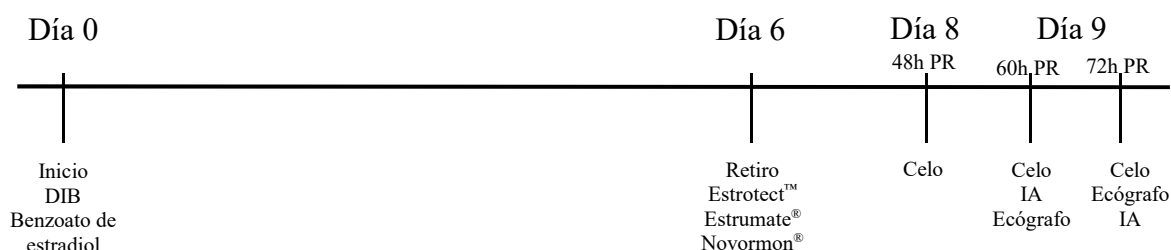


Figura 1. Protocolo J-Synch.

Se utilizó el protocolo J-Synch para sincronizar celo y medir el tamaño de folículos a diferentes tiempos de inseminación artificial, según celo detectado. Para comenzar se trabajó en un ambiente limpio. Se hizo la inserción del DIB[®] como indican las instrucciones del producto. Se utilizó Benzoato de estradiol, un derivado sintético de 17-βEstradiol, hormona esteroidea sintetizada por el folículo dominante ovárico (Benzoato de Estradiol 1 mg/mL) que complementa el uso del DIB[®] en la sincronización de celo en vacas y es aplicado para sincronizar la ovulación (Syntex[®] S.A. 2017). El benzoato de estradiol suprime el crecimiento del folículo dominante y es más consistente cuando es combinado con la progesterona, eliminando la etapa de crecimiento del folículo dominante de la

primera onda folicular y provocando una nueva onda folicular de tres a cinco días después (Bó *et al.* 1994).

Seis días después de la aplicación, los dispositivos se removieron y se aplicó una dosis intramuscular de 2 mL de Estrumate[®] análogo sintético de la Prostaglandina F_{2α} (Cloprostenol 263 µg/ mL), y 1.5 mL de Novormon[®] equivalentes a 300 UI de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG, PMSG) producida mediante metodología propia que permite obtener un producto con óptima relación FSH/LH y potencia estable garantizando resultados uniformes (Syntex[®] S.A. 2017). Seguido a esto se adhirió un parche detector de celo Estrotec[™]. Se hicieron tres grupos de revisión de celo basado en el diagnóstico obtenido del parche y el ecógrafo el cual muestra el tamaño del folículo congelando la imagen y midiendo el mismo, también se realizaron dos grupos de inseminación artificial. La primera revisión de celo se realizó a las 48 horas de remover el DIB[®] y las vacas que mostraron celo fueron inseminadas a las 60 horas (12 horas después de la revisión). La segunda revisión de celo se realizó a las 60 horas y las vacas que mostraron celo fueron inseminadas a las 72 horas. Se realizó IATF a las 72 horas tanto en vacas que presentaron celo como en vacas que no presentaron celo, además fueron inyectadas con GnRH y también fueron inseminadas a las 72 horas.

Al momento de la IA se midieron los folículos presentes y estos fueron clasificados como folículos medianos (<11 mm) y folículos grandes (≥11 mm) y se procedió a realizar la técnica de IA. Esta clasificación se realizó ya que Oliveira *et al.* (2014) realizaron una investigación en la que el promedio de tamaño de folículo en vacas no gestantes fue ≤10.99 mm las vacas gestantes presentaron un promedio de 11 mm en adelante.

Tiempos de celo evaluados.

- Presencia de celo a las 48 horas e IA a las 60 horas, en base a celo detectado
- Presencia de celo a las 60 horas e IA a las 72 horas, en base a celo detectado
- Presencia de celo a las 72 horas e IA a las 72 horas, en base a protocolo IATF
- Sin Presencia de celo se IA a las 72 horas, con protocolo IATF

Con el objetivo de evaluar la eficiencia de los parches detectores de celo Estrotec[®] se elaboró un experimento utilizando las vacas de la unidad de ganado de carne de la Escuela Agrícola Panamericana. Lugar que cuenta con una precipitación anual de 1100 mm, temperatura promedio de 24 °C y una altura de 800 msnm (Gauggel 2010). Se aplicaron 188 parches detectores de celo Estrotec[®] clasificados como parche medio y parche completo. Previo a la aplicación de los parches, estos se calentaron a una temperatura de 38 °C para que el adhesivo fuera más eficaz. Se cepilló y limpió el pelo para finalmente adherir el parche entre la cadera y la parte superior de la cola procurando un punto en el que haya mayor contacto al momento de ser montadas y finalmente se aplicó el parche. Al momento de revisar celo se observó que tan raspado estaba el parche clasificando como “0” los parches que se botaron, “1” completamente raspado, “2” medio raspado y “3” sin raspar. Se realizaron ecografías para probar si el celo mostrado por el parche no era un falso negativo. Todo esto se realizó con el fin de reducir los costos de Estrotec[®] a la mitad.

Tratamientos evaluados.

- Aplicación de parche completo para detección de celo.
- Aplicación de parche medio (cortado a lo largo) para la detección de celo.

Se midieron las siguientes variables.

- Porcentaje de preñez a diferentes horas de detección de celo.
- Porcentaje de preñez según tamaño de folículo.
- Activación de parches para detección de celo según escala.

Diseño experimental.

Se realizó un estudio retrospectivo donde se analizó el desempeño reproductivo de 185 vacas en un diseño completo a lazar considerando los diferentes tiempos de presentación de celo como tratamientos donde las variables no paramétricas como el estado de gestación fueron analizadas con un análisis de frecuencia utilizando la prueba de Chi² (χ^2). Se realizaron pruebas de correlación entre diferentes variables, para el tamaño de los folículos y para otras variables numéricas se utilizó la prueba t-test. También se utilizó un análisis de varianza (ANDEVA) y una separación de medias (LS MEANS). Todo esto se realizó utilizando el programa “Statistical Analysis System” (SAS[®] versión 9.4). Utilizando una probabilidad exigida de ($P \leq 0.05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se presentan los resultados de la evaluación del tiempo de celo y preñez. En este no se observaron diferencias significativas entre el porcentaje de preñez de las vacas que mostraron celo a las 48, 60 ó 72 horas, sin embargo, estos presentaron una diferencia con las vacas que no mostraron celo. Las vacas que no mostraron celo presentaron el porcentaje de preñez más bajo con 11.3% (21/186 vacas) del total de las vacas a pesar de haber sido tratadas con GnRH siendo este el grupo más grande con 75 vacas. En base a las probabilidades presentadas en este cuadro las vacas que presentaron celo a las 48 y 60 horas y las que no presentaron celo tuvieron una diferencia con un número mayor de vacas preñadas. Las vacas que presentaron celo a las 72 horas no mostraron una diferencia entre el número de vacas vacías y preñadas.

Cuadro 1. Porcentaje de preñez en vacas inseminadas a diferentes tiempos post retiro del implante.

Diagnostico	Tiempo de Celos en Horas			
	48	60	72	no
Preñada	56.8% (25/44) ^a	63.8% (30/47) ^a	52.6% (10/19) ^a	28% (21/75) ^b
Vacia	43.1% (19/44)	36.1%(17/47)	47.3% (9/19)	72% (54/75)
Probabilidad	0.0002	0.0001	0.0914	0.0001

ab: Medias con letras diferentes en la misma fila difieren entre sí ($P \leq 0.05$).

Independientes al tiempo de celo las vacas con folículos con un tamaño ≥ 11 mm presentaron un mayor porcentaje de preñez; 55.8% (n=104) comparado a las vacas con los folículos < 11 mm con un 34.6% (n=81) de preñez. Esto concuerda con Pessoa *et al.* (2015) quienes argumentan que las hembras con folículos ovulatorios más grandes tienen un mayor rango de ovulación y un mejor índice de preñez por IA en ganado de carne.

El Cuadro 2 muestra la frecuencia entre la clasificación folicular y la preñez por cada tiempo de celo. Las vacas que mostraron celo a las 48 horas presentaron más folículos ≥ 11 mm, pero hubo un porcentaje de preñez mayor en los folículos con < 11 mm lo cual puede ser debido a una baja fertilidad por un crecimiento demasiado acelerado del folículo. Las vacas que mostraron celo a las 60 horas presentaron un porcentaje de preñez muy similar entre los tamaños de folículos, pero tuvo una mayor presencia de folículos ≥ 11 mm. Entre los tiempos de celo, las vacas que mostraron celo a las 72 horas con folículos ≥ 11 mm fueron

las que mostraron el mejor porcentaje de preñez, pero también fueron el grupo más pequeño de vacas.

Las vacas que no presentaron celo fueron el grupo más grande de vacas, pero con menor porcentaje de preñez tanto en los folículos ≥ 11 mm como en los < 11 mm. Los folículos ≥ 11 mm no mostraron diferencias entre los tiempos de celo, en cambio los folículos < 11 mm tuvieron diferencia entre las vacas que presentaron celo a las 72 horas y las que no presentaron celo.

Cuadro 2. Porcentaje de preñez en vacas inseminadas a diferentes tiempos post retiro del implante DIB[®] para las diferentes clasificaciones foliculares.

Preñadas según clasificación	Tiempo de Celos en Horas			
	48	60	72	No
≥ 11 mm	51.9% (14/27)	63.3% (19/30)	70% (7/10)	48.7% (18/37)
< 11 mm	64.7% (11/17) ^a	64.7% (11/17) ^a	33.3% (3/9) ^{ab}	7.9% (3/38) ^b
Probabilidad	0.0937	0.8507	0.0014	≤ 0.0001

ab: Medias con letras diferentes en la misma fila difieren entre sí ($P \leq 0.05$).

El número de servicios por vaca preñada se presenta en el Cuadro 3. A las 48 y 60 horas no hubo diferencias, mientras que las vacas que presentaron celo a las 72 horas y las vacas que no presentaron celo mostraron números de servicios por vaca preñada altos ($P \leq 0.0014$).

Cuadro 3. Numero de servicios por vaca preñada para los diferentes tiempos de celo post retiro de DIB[®] y la clasificación folicular en vacas.

Preñadas según clasificación	Tiempo de Celos en Horas			
	48	60	72	No
≥ 11 mm	1.93	1.58	1.43	2.06
< 11 mm	1.55	1.55	3.00	12.67
Probabilidad	0.0937	0.8507	0.0014	≤ 0.0001

Se realizó una comparación entre las vacas que fueron inseminadas a celo detectado presentando un porcentaje de preñez de 60.44% y las vacas que fueron inseminadas a tiempo fijo con un porcentaje de preñez de 32.98%. Este análisis tuvo una diferencia altamente significativa ($P \leq 0.0002$) indicando que hay un mayor porcentaje en las vacas inseminadas a celo detectado.

El Cuadro 4 muestra la correlacion de Pearson entre la preñez con tiempo de celo y tamaño de folículo. Este cuadro indica que el tiempo de celo y tamaño de folículo tienen influencia sobre el índice de preñez. También, el tamaño de folículo influye en el tiempo en que las vacas muestran celo.

Cuadro 4. Correlacion de la preñez con tiempo de celo y tamaño de folículo.

	Tiempo Celos	Tamaño Folículo	Preñez
Tiempo Celos	1.00000	0.14670	0.29674
Tamaño Folículo	0.14670	1.00000	0.14449
Preñez	0.29674	0.14449	1.00000
	0.0463	0.0463	<0.0001
	<0.0001	0.0497	0.497

El Cuadro 5 presenta un análisis de frecuencia de los parches EstrotecTM comparando el parche medio con el parche completo por su clasificación en las cuales no hubo diferencia significativa ($P \leq 0.05$). De seis vacas que no mostraron presencia de celo con el parche completo, cuatro fueron sincronizadas y a dos se les aplicó PGF₂ α ; de igual manera no presentaron celo, lo cual contradice a Kaneda *et al.* (1981) quienes dicen que la prostaglandina puede ser utilizada para el tratamiento de celo silencioso. Todas las vacas que no mostraron celo con medio parche fueron sometidas a un protocolo de sincronización.

Cuadro 5. Análisis de frecuencia de activación por los dos tipos de parches.

Estrotec TM	n	Activado			
		0	1	2	3
Completo	97	12.4% (12)	75.3% (73)	6.2% (6)	6.2% (6)
Medio	90	12.2% (11)	76.7% (69)	6.7% (6)	4.4% (4)
Probabilidad		0.9753	0.7592	0.9611	0.7841

4. CONCLUSIONES

- La mayor fertilidad se observó con las vacas que presentaron celo y fueron inseminadas a las 72 horas.
- La mayor fertilidad por servicio a su vez se dio en vacas que presentaron folículos $\geq 11\text{mm}$.
- Los parches Estrotec™ tienen un porcentaje de error muy bajo y pueden ser utilizados partidos a la mitad, presentando los mismos resultados que un parche completo.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar la inseminación artificial a las 72 horas solamente a las vacas que presenten celo.
- Desarrollar políticas de IA con folículos mayores a 11mm para fomentar mejores índices de preñez usando semen de calidad superior.
- Utilizar EstroTECT™ parche medio para la detección del celo en vacas.

6. LITERATURA CITADA

- Barrell GK. 1984. Beef cattle reproduction: Animal Industries Workshop. Canterbury, New Zealand: Lincoln College.
- Bó GA, Adams GP, Pierson RA, Caccia M, Tribulo H, Mapletofi RJ. 1994. Follicular wave dynamics after estradiol-17/3 treatment of heifers with or without a progestogen implant. *Theodenology*. 41(8): 1555- 1569.
- Bó G, Baruselli P. 2014. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle [internet]. Argentina: Universidad Nacional de Villa María; [consultado 2018 ago 19]. https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/47782D68923BCBE487953521D2FC920C/S1751731114000822a.pdf/synchronization_of_ovulation_and_fixedtime_artificial_insemination_in_beef_cattle.pdf
- Bó GA, de la Mata J, Baruselli P, Menchaca A. 2016. Alternative programs for synchronizing and re-synchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology*. 86(1): 388-396.
- Bonato GL, Cunha MO, Santos RM, Carneiro LC. 2012. Eficiência do EstroTECT™ na identificação de estros em vacas. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 49(1): 19-23.
- Cuestas H, Alvarado R. 2002. Análisis productivo y reproductivo del hato lechero de la Hacienda Tapalapa en Santa Bárbara, Honduras utilizando el programa VAMPP® [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 33 p.
- Dickinson SE, Geary TW, Monnig JM, Pohler KG, Green JA, Smith MF. 2016. Efeito da maturação do folículo pré-ovulatório no estabelecimento da prenhez em bovinos: o papel da competência oocitária e do ambiente materno. *Anais da XXX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões*. Foz do Iguaçu. 25-27 de Agosto de 2016. Paraná, Brasil. Comitê Científico SBTE.
- Diskin M, Sreenan J. 2000. Expression and detection of oestrus in cattle. *EDP Sciences*. 40(5): 481-491.
- EstroTECT™. 2017. EstroTECT heat detector [internet]. Usa: EstroTECT™; [consultado ago 28]. <http://estrotect.com/about-estrotect-heat-detectors>

- Gauggel G. 2010. Descripción de una calicata según textura y estructura. (Material de clase). Zamorano. Honduras
- Programme JFAOIAEA. 2003. Animal Production and Health. Farming in the High Andes - Improving Crops with Nuclear Science - Stories, NAFA. [accessed 2018 Sep]. <http://www-naweb.iaea.org/nafa/aph/resources/technology-ai.html>
- Johnson S, Jaeger J. 2015. Comparing Standing Heat and Estroject HeatDetection Patches. Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports
- Kaneda Y, Domeki I, Kamomae H, Nakahara T. 1981. Synchronization of Estrus with Prostaglandin F₂ α in Cattle. Animal Reproduction Division, National Institute of Animal Industry 15(2): 137–143
- Morgan G, Dawson L. 2008. Development of teaser bulls under field conditions. Vet Clin Food Anim. 24(3): 443-453.
- Oliveira R, Magalhães G, Oliveira C, Piccolo P. 2014. Avaliacao do Tamahno do Folículo Ovulatório e da Taxa de Concepcao de Vacas Nelore em Protocolos de IATF. Anais VI SIMPAC 6(1): 191–196.
- Pessoa G, Martini A, Carloto G, Rodrigues M, Claro Júnior I, Baruselli P, Brauner C, Rubin M, Corrêa M, Leivas F, Sá Filho M. 2015. Different doses of equine chorionic gonadotropin on ovarian follicular growth and pregnancy rate of suckled *Bos taurus* beef cows subjected to timed artificial insemination protocol, Theriogenology. 85(5): 792-799.
- Rao T, Kumar N, Chaurasia S, Patel N. 2013. Heat detection techniques in cattle and buffalo. Vet World. 6(6): 363-369.
- Ribadu Y, Abdullahi, Nakao, Toshihiko. 1999. Bovine Reproductive Ultrasonography: A Review. Journal of Reproduction and Development. 45(1): 13-28.
- SENASA. Agroveter market animal health. 2017. [Internet]. Available from: <http://www.agrovetermarket.com/productos-veterinarios/imprimir/catofos-b9b12-fosforo-vitamina-hematopoyetico>.
- Skenandore, Cassandra S., and Felipe C. Cardoso. 2017. The Effect of Tail Paint Formulation and Heifer Behavior on Estrus Detection. International Journal of Veterinary Science and Medicine. 5(2): 113–120.
- Syntex[®] S.A. Syntex Argentina. 2017. [Internet]. Available from: http://www.syntexar.com/es/resultado_busqueda.php?submodulo=PR1&filtro_categoria=125&idioma=122.