

INICIO DEL CELO, TASA DE GESTACIÓN Y RELACIÓN DEL TIEMPO DE INSEMINACIÓN CON LOS NIVELES DE PROGESTERONA EN VACAS BRAHMAN

Germán Aguirre, Carlos Pardo, Agustín Góngora*.

Grupo de Investigación en Reproducción y Genética Animal (GIRGA) Universidad de los Llanos. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Villavicencio, Colombia. * Correspondencia: agongora60@hotmail.com

Recibido: Febrero 22 de 2006; Aceptado: Junio 2 de 2006

RESUMEN

Objetivo. Establecer la frecuencia del celo, la tasa de fertilidad y los niveles de progesterona (P_4) en vacas brahman. **Materiales y métodos.** Se analizaron la presentación del celo, la tasa de fertilidad y los niveles de P_4 al momento de la IA en vacas Brahman ($n=160$) en una Finca del departamento de Cundinamarca (Colombia). **Resultados.** La mayor frecuencia de celos se observó en la mañana (68.75%) respecto a la tarde (31.25%). Los valores promedio de P_4 fueron de 0.22ng/ml, con valores máximos y mínimos de 3.035ng/ml. y 0.000ng/ml, respectivamente. La eficiencia en la detección del celo por niveles de P_4 fue alta (96.25%). El promedio de tiempo transcurrido entre el momento de la detección de la vaca en celo y la inseminación fue de (12.6 horas). No se encontró una asociación estadística entre los niveles de P_4 al momento de la inseminación con la tasa de fertilidad (45%). **Conclusiones.** Las condiciones climáticas o la época pueden afectar la presentación del celo, que los niveles de P_4 por si solos no explican las tasas de fertilidad, que la P_4 es útil en el manejo del control reproductivo y que la IA diferente al esquema AM –PM podría mejorar las tasas de fertilidad de los programas de IA en el trópico húmedo colombiano.

Palabras clave: Estro, progesterona, inseminación artificial, brahman.

ONSET OF OESTRUS, PREGNANCY RATE AND RELATIONSHIP OF THE INSEMINATION TIME WITH PROGESTERONE LEVELS IN COWS BRAHMAN

ABSTRACT

Objective. To establish oestrus frequency, fertility rate and progesterone levels in cows brahman. **Materials and methods.** Onset of oestrus, pregnancy rate and the P_4 levels were analyzed to the moment of AI in Brahman cows ($n=160$) in a farm of Cundinamarca department (Colombia). **Results.** The biggest frequency of oestrus was observed in the morning (68.75%) regarding the afternoon (31.25%). Average values of P_4 were of 0.22 ng/ml, with values maxima and minima of 3.035 ng/ml. and 0.000 ng/ml, respectively. The efficiency in the oestrus detection for levels of P_4 was high (96.25%). The average of time lapsed among the moment of the oestrus detection and the insemination was of (12.6 hours). An statistical association did not found among the levels from P_4 to the moment of the insemination with the fertility rate of (45%). **Conclusions.** The climatic conditions

or the season can affect the onset of oestrus, that the levels of P_4 by itself do not explain the rates of fertility, that the P_4 is useful in the handling of reproductive control and that the AI different to the scheme AM - PM could improve the fertility rates of the programs of AI in the Colombian humid tropic.

Key words: Oestrus, progesterone, artificial insemination, brahman.

INTRODUCCIÓN

Las diferentes razas *Bos indicus* han contribuido en gran parte al desarrollo de la industria de carne y leche en los países tropicales. En sólo Brasil, la población bovina alcanza 170 millones (1), mientras en Colombia es de 23 millones y el 90% posee características cebuínas (2). A pesar que su desempeño reproductivo ha sido discutido, no existe duda que el *Bos indicus* es superior al *Bos taurus* cuando se mantiene en iguales condiciones tropicales o subtropicales en donde la alta temperatura, humedad, ectoparásitos y baja calidad de los forrajes son mayores (3).

Desde la década de los años cincuenta del pasado siglo, se comenzó en Latinoamérica el uso de la inseminación artificial (IA) como una herramienta importante de mejoramiento genético, la cual podría contribuir a mejorar los niveles de eficiencia, sin embargo en la actualidad su difusión continua siendo baja (4). Aún el número de vacas de carne inseminadas anualmente en los Estados Unidos es menor del 6% (5,6).

Bajo estas consideraciones, se discute que uno de los factores que mayormente ha contribuido a la poca difusión de la IA es la deficiencia en la detección de los celos, especialmente en el ganado Cebú, ya que por cada 10 vacas que entran en un programa de IA solo es posible detectar tres o cuatro en un período de 18-23 días (un ciclo estral) (4). Aunque se ha establecido previamente que existen claras diferencias fisiológicas y de comportamiento reproductivo entre *Bos indicus* y *Bos taurus*, (7-9) en la práctica los programas de IA no establecen diferencias respecto al momento óptimo de inseminación. Igualmente los factores climáticos, el manejo o las características fisiológicas propias del animal afectan la expresión del estro e inciden en la ovulación normal (10), las cuales juntas podrían explicar la baja fertilidad reportada en los programas de IA en el *Bos indicus* (11). La falla

en la detección del estro, por lo tanto es considerado el mayor problema de la industria ganadera moderna (6,12).

Con el objeto de mejorar los niveles de eficiencia de los programas de IA e inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en la región del Piedemonte de los Llanos, pues es conocido que el ganado Cebú, incluido el Brahman constituye la mayor población ganadera del país, se diseñó este trabajo para conocer la frecuencia de presentación del celo, la tasa de fertilidad y la relación del tiempo de la inseminación artificial con los niveles de P_4 de vacas Brahman.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación y animales experimentales

El presente trabajo fue realizado entre los meses de Abril y Noviembre de 2002 (época de invierno) en una ganadería de Cebú Brahman, del municipio de Paratebueno, Cundinamarca (4°, 22', 23'' latitud norte y 73°, 13' 17''. 256 msnm, temperatura promedio de 27°C, humedad relativa del 75%). Se utilizaron 160 vacas de un total de 360 que conformaban el programa de IA. Las vacas se mantuvieron bajo pastoreo rotacional en praderas de *B. decumbens*, *B. humidicola* y *B. dictyoneura* en grupos de 40 vacas acompañadas de un toro calentador.

La observación de los celos se realizó dos veces al día (mañana y tarde) por un observador experimentado durante una hora. La vaca detectada en celo se conducía al corral más próximo acompañada por dos o tres compañeras en donde permanecían hasta el momento de la IA, bajo la regla a.m. – p.m. (vacas detectadas en celo en horas de la mañana se inseminaron en horas de la tarde, contrariamente las vacas en celo en horas de la tarde se inseminaron en la mañana del día siguiente).

Obtención de muestras sanguíneas y determinación de progesterona

Inmediatamente después de la IA, se tomó una muestra sanguínea de la vena caudal en tubos vacutainer® estériles sin anticoagulante y fue centrifugada una hora después de su obtención a 1.000 RPM por 5 minutos. El suero fue extraído y almacenado a -20°C en viales plásticos de 1.0 ml. hasta su análisis. La determinación de P_4 se realizó por Radioinmunoanálisis (RIA) en fase sólida en el Laboratorio de Hormonas del Postgrado en Salud y Producción Animal de la Universidad Nacional de Colombia, mediante un Kit comercial (ICN- Pharmaceuticals, Inc. CA). Las variaciones intraensayo e interensayo fueron de 6.7 y de 8.7% respectivamente.

Análisis estadístico

La información obtenida fue consignada en una base de datos en el programa Excel y los datos fueron analizados mediante el procedimiento GLM del programa SAS bajo Windows (13). Se realizó a la vez una prueba de correlación mediante el mismo programa estadístico.

RESULTADOS

La mayor frecuencia de presentación de celo se observó en las horas de la mañana, (5 a.m. - 8 a.m.) 110 vacas (68.75%) presentaron celo en estas horas, mientras 50 (31.25%) lo presentaron en las horas de la tarde (Figura 1).

La eficiencia en la detección del celo por niveles de P_4 fue alta (96.25%) lo que demuestra la importancia de esta hormona en el control reproductivo. La hora de detección del celo coincidió con los bajos niveles de P_4 (<1.0 ng/ml). Los niveles promedios de P_4 fueron de 0.224 ng/ml con valores máximos de 3.035 ng/ml y mínimos de 0.00 con una amplia variabilidad

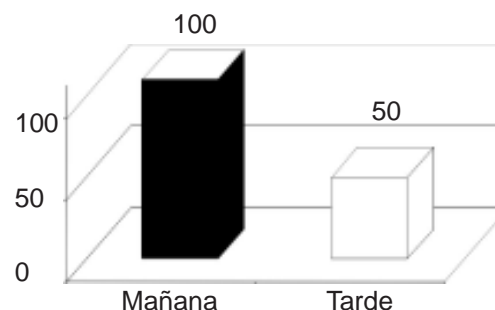


Figura 1. Frecuencia de presentación del celo en vacas Brahman en horas de la mañana y tarde.

individual. Sólo en 6 vacas (3.25 %) se encontraron valores por encima de 1.0 ng/ml como indicativo de encontrarse en la fase luteal (Tabla 1).

No se encontró una asociación estadística ($P > 0.5$) entre los niveles de P_4 al momento de la inseminación con la tasa de fertilidad (45%) (Número de animales preñados sobre el total), por lo que se infiere que ésta depende de muchos otros factores involucrados.

DISCUSIÓN

La alta frecuencia de celos en horas de la mañana coincide con reportes de algunos autores (14) y un reciente trabajo en novillas Brahman en la misma región (15) aunque difieren con otros de una mayor frecuencia de celos en horas de la noche (60%) (16). Algunos investigadores señalan una mayor presentación de celos en horas de la tarde (8,3) mientras que otros reportan que 53.8% de las vacas Nelore comenzaron el celo en la noche entre las 6 p.m y las 6 a.m. (17).

En otro estudio en novillas *B. indicus x B. taurus* se encontró que 43.5% de las montas ocurrieron entre 7 a.m y 7 p.m y 56.5% entre 7 p.m y 7 a.m. (18). Las diferencias de estos estudios con los aquí

Tabla 1. Niveles séricos de progesterona medidos por RIA en vacas Brahman del Piedemonte Llanero.

VALORES SERICOS DE PROGESTERONA (P_4)

N	Valores de P_4 ≥ 1.0 ng/ml	Valores de P_4 ≤ 1.0 ng/ml	Valores Promedios P_4 ng/ml	Valores Máximos P_4 ng/ml	Valores Mínimos P_4 ng/ml
160	6	154	0.224	3.035	0.00

reportados de una mayor frecuencia de celos en la mañana (68.75%) no pueden ser fácilmente explicados, aunque sugieren un efecto de la época (época de lluvias), en donde la temperatura ambiental es menor que la observada en la época seca que coincide con observaciones de otros investigadores en la región de Córdoba (19).

También se ha comunicado un mayor número de vacas que presentan celo en las horas de la noche que durante el día (20). Sin embargo, este comportamiento cambió cuando las vacas fueron sincronizadas con PGF2a aunque los resultados se vieron afectados por un alto índice de temperatura humedad (ITH) (medida del estrés por calor) en las vacas no sincronizadas lo que sugiere que el calor ambiental afecta la expresión del estro aún en ganado Brahman adaptado al trópico.

Los efectos ambientales sobre las características del celo también se han observado en novillas Nelore sincronizadas, ya que las montas no se distribuían igualmente durante el tiempo de duración del celo sino que existía ciertos períodos de mayor o menor actividad sexual (21). Es posible que las condiciones climáticas del día, condicionen la actividad sexual a ciertas horas, especialmente a las de menor temperatura ambiental. Observaciones similares respecto a la duración del estro han sido hechas en ganado Brahman al encontrar una diferencia de 6 horas entre el invierno y el verano (22). Igualmente, se ha observado mayor frecuencia de celos nocturnos y reducción en la intensidad del estro en *Bos indicus* cuando la temperatura del día tuvo incrementos por encima de 27°C (23).

Es claro que los mismos factores que afectan la presentación del celo en el *Bos indicus* afectan mayormente el *Bos taurus*, así en novillas *Holstein* bajo las condiciones climáticas de Cuba el estro fue más corto en el invierno que en el verano (24). Contrariamente algunos reportan una mayor frecuencia de celos de menor duración en la época seca (25).

La eficiencia de detección de celo por niveles de P_4 demuestra una vez más la importancia de esta hormona en el control reproductivo (26). Los niveles promedios de P_4 (0.22 ng/ml) fueron menores a los reportados por en ganado *Holstein* en celo (0.4 ng/ml) (27). Se ha establecido previamente en el ganado *Bos indicus* que el tamaño del folículo preovulatorio y cuerpo lúteo

es de menor tamaño (10-12 mm y 17-21 mm (27 – 30) que el de ganado *Bos taurus* (14-20mm y 20-30 mm respectivamente) 31 – 33) lo que posiblemente explique la menor duración e intensidad del celo.

En estudios realizados en la región de Córdoba (Colombia) (34) bajo condiciones climáticas similares a este estudio no se reportaron diferencias en los niveles de P_4 al momento del celo de acuerdo con el grupo racial. Se establecieron valores de 0.347 ± 0.31 , 0.331 ± 0.36 , 0.221 ± 0.20 , 0.165 ± 0.11 ng/ml en ganado Simmental X Cebú, Holstein X Cebú, Romosinuano y Cebú respectivamente. Los niveles más bajos correspondieron al Cebú (0.165 ng/ml), los cuales son aún menores que los encontrados en este estudio (0.22ng/ml). Está por establecerse mediante nuevas investigaciones y en una población más amplia, si dentro de las distintas razas cebuínas existen diferencias al igual que frente al ganado Brahman, lo cual confirmaría la gran variabilidad dentro de la misma raza.

La tasa de concepción (45%) coincide con otros estudios a nivel del trópico (35,36) aún cuando en la época en que se realizó (época de lluvias) supone una mayor disponibilidad y calidad de forraje. Sin embargo se ha reportado que la estacionalidad afecta la ciclicidad del ganado *Bos indicus* (37, 38). Si bien en regiones tropicales, no podría hablarse de estacionalidad en razón de que no se tienen definidas las cuatro estaciones, en la región donde se realizó el estudio, la precipitación establece claramente dos épocas, lluviosa y seca, que podrían eventualmente afectar la ciclicidad dependiendo de la disponibilidad de forraje. En estudios *in vitro* se ha encontrado que las células luteales son menos sensibles a LH durante el invierno (39). En contraste las mayores tasas de concepción en ganado brahman fueron más altas en el verano (61%) que en el otoño (36%) (37).

El tiempo transcurrido entre el momento del inicio del estro y la inseminación (12.6 horas) se encuentra dentro del rango (12-18 horas) recomendado para vacas *Bos taurus* (40), para obtener una máxima fertilidad. Sin embargo, en un estudio más reciente se ha encontrado un menor rango (5-16 horas) con ayuda de un sistema electrónico (Heat-watch[®]) (41). En otro estudio en ganado Brahman el celo fue más corto (6.65 ± 1.2 hrs) (42) comparados con los valores obtenidos por observación visual (43). Tal vez la aparición

de métodos más sensibles de detección del celo sean los que establecen diferencias respecto a la duración entre estudios.

La falta de asociación entre los niveles de P_4 con la tasa de fertilidad se explica por la gran cantidad de factores correlacionados, aunque se han encontrado niveles superiores de P_4 al estro en novillas repetidoras de servicios que a su vez coincidió con una baja liberación de LH y una mayor duración del estro (44). Aunque no fue analizado en este estudio, varios reportes indican que las bajas concentraciones de P_4 durante la fase luteal que antecede a la IA están correlacionadas con una baja fertilidad (45). Se evidencia así la importancia de la P_4 en modular eventos claves como la dinámica folicular, ovulación y la función uterina posterior a la ovulación.

También es importante mencionar que el momento de la inseminación debe ser ajustado entre épocas, ya que se ha demostrado que inseminando las vacas más temprano en la época seca y/o con altas temperaturas se mejoran ostensiblemente las

tasas de preñez (46, 47). Si bien es cierto que algunos estudios señalan que aún siendo la duración del celo más corto en el ganado cebú, el intervalo entre el estro y la ovulación no presentan diferencias entre *Bos taurus* y *Bos indicus* (20). Analizados en conjunto estos resultados, permiten sugerir que los esquemas de inseminación artificial a.m. – p.m. deben ser ajustados para el ganado cebú incluido el Brahman y que por lo tanto se requieren más estudios para conocer el mejor momento de la IA.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue desarrollado con el auspicio del Colciencias dentro del "Semillero de investigación en reproducción de especies de interés zootécnico y amenazadas de la Orinoquía Colombiana". Agradecimientos al Drs. Henry Grajales, de la Universidad Nacional de Colombia, Daniel Acosta, Oscar Pardo y a los señores Ramit Martínez y Nevio Echeverri, propietario de la Hacienda Vendaval en donde se realice el estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Nogueira G. Puberty in South American *Bos indicus* (Zebu) cattle. *Anim Reprod Sci* 2004; 83:361-372.
2. Federación Nacional de Ganaderos. (FEDEGAN) 2002.
3. Chenoweth P. Aspects of reproduction in female *Bos indicus* cattle; a review. *Aust Vet J* 1994; 71:422-426.
4. Galina C. Esquemas Prácticos de Manejo Reproductivo en Ganaderías de Carne In: Memorias Seminario Internacional Tópicos Selectos en Reproducción Bovina. 200; Bogotá, Mayo 3-5.
5. NAHMS National Animal Health Monitoring System. Part I: Reference of 1997 Beef cow-calf management Practices. p 38. USDA-APHIS-VS. Fort Collins, CO. 1997.
6. NAHMS. National Animal Health Monitoring System. Part III: Reference of 1997. Beef Cow-Calf-Production Management and disease Control. P.11 USDA-APHIS-VS. Fort Collins, CO. 1998.
7. Randel R. LH and ovulation in Brahman, Brahman x Hereford and Hereford heifers. *J Anim Sci* 1976; 43: 300.
8. Galina C, Arthur G. Review on cattle reproduction in the tropics. Part 4. Oestrus cycle. *Anim Breed Abstr* 1990; 58:697-707.
9. Buntjer J, Otsen M, Nijman I, Kuiper M, Lenstra J. Phylogeny of bovine species based on AFLP fingerprinting. *Heredity* 2002; 88:46-51.
10. Dobson H, Smith R. What is stress, and how does it affects reproduction. *Anim Reprod Sci* 2000; 61; 743-752.
11. Galina C, Orihuela A, Rubio I. Behavioural trenes affecting Oestrus detection in Zebu cattle. *Anim Reprod Sci* 1996; 42:465-470.

12. Sturman H, Oltenacu E, Foote R. Importance of insemination only cows in estrus. *Theriogenology* 2000; 53:1657-1667.
13. Statistical Analysis Systems Institute 1999-2000, SAS. User's Guide Statistics, SAS. Institute, Cary, NC.
14. Mattoni M, Mukasa-Mugerwa G, Cecchini G, Sovani S. The reproductive performance of east African (*Bos indicus*) Zebu cattle in Ethiopia: estrous cycle length, duration, behaviour and ovulation time. *Theriogenology* 1988; 30:961-971
15. Góngora A, Hernández A. Comportamiento sexual, duración del estro y del ciclo estral en novillas criollas sanmartineras y brahman del piedemonte llanero colombiano. *Livestock Research for Rural Development* 2006; 18.
16. Velásquez J, Salazar C. Evaluación de la duración y la actividad sexual en el celo natural y en el celo inducido con PG F2a en novillas Brahman. Tesis. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional. Santafé de Bogotá. 1996.
17. Pinheiro O, Barros C, Figueredo R, Valle E, Do Encarnacao R, Padoani C. Estrous behaviour and the estrus-to-ovulation interval in nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2a or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology* 1998; 49:667-681.
18. Membrive C. Estudo da sincronizacao das ondas foliculares e das características de estros, por radio telemetria, em novilhas cruzadas (*Bos Indicus x Bos taurus*) tratadas com acetato de melengestrol e prostaglandina asociados a hCG, GnRH ou 17b estradiol+progesterona. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria e Zootecnia, Universidad de Sao Paulo, Sao Paulo. 2000.
19. Castro A, Gómez R. Duración del ciclo estral, del estro y tiempo de ovulación en ganado de leche en climas cálidos de Colombia. *Revista ICA* 2002; 3: 171-176.
20. Landaeta-Hernández A, Yelich J, Lemaster J, Tran T, Fields M, Chase C, Rae D, Chenoweth P. Environmental, genetic and social factors affecting the expression of estrus in beef cows. *Theriogenology* 2002; 57:1657-1370.
21. Rocha J. Sincronizacao hormonal da onda folicular e do estro em novilhas de corte mesticas monitoradas por radio telemetria. Tesis Doctoral. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidad de Sao Paulo, Sao Paulo. 2000.
22. Plasse D, Warnick A, Koger M. Reproductive behaviour of *Bos indicus* females in a subtropical environment. IV. Length of estrus cycle, duration of estrus, time of ovulation, fertilization and embryo survival in grade Brahman heifers. *J Anim Sci* 1970; 30:63-72.
23. Lamothe-Zavaleta C, Fredriksson G, Kindahl H. Reproductive performance of zebu cattle in México. 1. Sexual behavior and seasonal influence on estrous cyclicity. *Theriogenology* 1991; 36:887-896.
24. Solano R, Fernandez O, Martinez G. Comportamiento del ciclo estral en novillas Holstein bajo las condiciones climáticas de Cuba. *Rev Cub Cienc Vet* 1988; 19: 47-59.
25. Madan M, Jhonson H. Environmental heat effects of bovine luteinizing hormone. *J Dairy Sci* 1973; 52:1420-1423.
26. Duchens M, Maciel M, Gustafsson H, Fosberg M, Rodriguez H, Edqvist L. Influence of perioestrus suprabasal progesterona levels on cycle Length, Oestrus behavior and ovulation in heifers. *Amin Reprod Sci* 1995; 37:95-108.
27. Bage R. Progesterone levels and oestrus expression in dairy heifers at the time of field insemination. *Reprod Dom Anim* 1999; 34:109-110
28. Bo G, Adams P, Nasser L, Pierson R, Mapletoft R. Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. *Theriogenology* 1993; 40:225-239.
29. Figueiredo R, Barros C, Pinheiro O, Soler J. Ovarian follicular dynamics in Nelore Breed

- (*Bos indicus*). *Theriogenology* 1997; 47:1489-1505.
30. Rhodes F, De'ath G, Entwistle K. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. *Anim Reprod Sci* 1995; 38:265-277.
 31. Ginther O, Kastelic J, Knopf L. Composition and characteristic of follicular waves during the bovine oestrous cycle. *Anim Reprod Sci* 1989; 20:187-200.
 32. Kastelic J, Bergfelt D, Ginther O. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology* 1990; 33:1269-1278.
 33. Bo G, Martinez M, Nasser L, Caccia M, Tribulo H, Mapletoft R. Follicular dynamics in *Bos indicus* and *Bos Taurus* beef cattle under pasture conditions in Argentina. In: *Proceedings of the 10th Congreso Brasileiro de Reproducao Animal*, 1993; Vol. 2. Campo Grande, p.221 (abstract).
 34. Grajales H. Comportamiento reproductivo del ganado bovino en el trópico cálido húmedo colombiano; pubertad, ciclo estral, niveles de hormonas esteroides y su relación con la tasa de concepción y fertilidad. Tesis Ph.D. Facultad de Medicina Veterinaria Universidad Nacional de Colombia. 2000.
 35. Baca J, Enrique P, Galina C. Reproductive performance of *Bos taurus* × *Bos indicus* heifers following artificial insemination after spontaneous estrus in the dry tropics of Costa Rica. *Veterinaria México*. 1998; 29:57-66.
 36. Pereira J. Contribuição genética do Zebu na pecuária bovina do Brasil. *Informe Agropecuário* 2000; 21:30-38.
 37. Randel R. Unique reproductive traits of Brahman and Brahman based cows. In: Field MJ, Sand RS. (Eds.). *Factors Affecting Calf Crop*. CRC Press, Boca Ratón, FL, USA, 1994; 23-43.
 38. McGowan M. Sincronización de celos y programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado *Bos indicus* y cruza *Bos indicus*. Bó, GA, Caccia M. (Eds.). *Resúmenes Tercer Simposio Internacional de Reproducción Animal*. Carlos Paz, Córdoba, Argentina, 1999; 71-82.
 39. Randel R. Seasonal effects on female reproductive functions in the bovine (Indian breeds). *Theriogenology* 1984; 21:170-185.
 40. Zavy M, Geisert R. *Embryonic mortality in domestic species*. CRC Press. 1994;7.
 41. Nebel R, Dransfield M, Jobst S, Bame J. Automated electronic systems for the detection of oestrus and time of AI in cattle. *Anim Reprod Sci* 2000; 61:713-723.
 42. Rae D, Chenoweth P, Giangreco M, Dixon P, Bennett F. Assessment of estrus detection by visual observation and electronic detection methods and characterization of factors associated with estrus and pregnancy in beef heifers. *Theriogenology* 1999; 51:1121-1132.
 43. Bo G, Baruselli P, Martinez M. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 2003; 78:307-326.
 44. Gustafsson H, Larsson K, Kindahl H, Majed A. Sequential endocrine changes and behaviour during oestrus and metaestrus in repeat breeder and virgin heifers. *Anim Reprod Sci* 1986; 10:261-273.
 45. Thatcher W, Santos J. Characterization of early embryonic death and prevention of pregnancy wastage. *Proceedings of the American Association of bovine Practitioners*. 2003; 36:100-107.
 46. Thatcher W. Enhancement of fertility in heat-stressed cows. In: *Proceedings of the International Conference on Livestock in the Tropics*. Institute of food and Agricultural Sciences University of Florida, 1996; Gainesville, Florida.
 47. Badinga L, Calier R, Thatcher W. Effect as of climatic and management on conception rate of dairy cattle in subtropical environmental. *J Dairy Sci* 1985; 68: 78.