

Original

# Efecto de promotores de crecimiento folicular sobre la inseminación artificial en tiempo fijo en vacas lecheras

Ítalo Câmara-de-Almeida<sup>1\*</sup>  Ph.D; Fabrício Albani-Oliveira<sup>2</sup>  Ph.D;  
Ana P. Madureira<sup>3</sup>  Ph.D; Graziela Barioni<sup>1</sup>  Ph.D; Ciro A. Alves-Torres<sup>4</sup>  Ph.D.

<sup>1</sup>Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Medicina Veterinária, Espírito Santo, Brasil.

<sup>2</sup>Instituto Federal do Espírito Santo, Rodovia Br 482, Espírito Santo, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Federal de São João Del Rei, Departamento de Engenharia de Biosistemas, São João Del Rei, Minas Gerais, Brasil.

<sup>4</sup>Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia, Campus Universitário, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

\*Correspondencia: [almeidaicvet@gmail.com](mailto:almeidaicvet@gmail.com)

Recibido: Marzo 2019; Aceptado: Agosto 2020; Publicado: Noviembre 2020.

## RESUMEN

**Objetivo.** Evaluar la eficacia de la gonadotropina coriónica equina (eCG) y la hormona estimulante del folículo (FSH) en la tasa de preñez de vacas cruzadas con diferentes puntajes de condición corporal (PCC) en el período posparto en inseminación artificial de tiempo fijo (IATF). **Materiales y métodos.** Las vacas se sometieron al mismo protocolo hormonal: día cero (D0), inserción de un dispositivo de progesterona intravaginal (DPI) y aplicación intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (BE); D8, abstinencia DPI, aplicación de 0.150 mg de prostaglandina. En D8, los animales se distribuyeron en tres tratamientos: 1-(TeCG;n=98) aplicación de 300 UI de eCG; 2-(TFSH; n=84) aplicación de 20mg de FSH y; 3-(Control; n=115) sin tratamiento adicional; en D9, todos los animales recibieron 1mg de BE; D10, IATF de todas las vacas. Después de 30 días de IATF, se realizó un diagnóstico de embarazo por ultrasonido. **Resultados.** No hubo diferencias ( $p < 0.05$ ) en relación con la tasa de preñez para vacas en los tratamientos TeCG (52.04%), TFSH (40.47%) y Control (40.00%). La tasa de preñez fue mayor ( $p < 0.05$ ) para TeCG (41.46%) en vacas con baja condición corporal en comparación con TFSH (18.18%) y Control (17.07%). No hubo diferencias ( $p < 0.05$ ) en relación con los días posparto (35-65 o 66-95) en relación con la tasa de embarazo. **Conclusiones.** El uso de eCG o FSH no resultó en aumento en la tasa de embarazo en comparación con el tratamiento de control, sin embargo, eCG mejoró la tasa de preñez de vacas con puntajes bajos de condición corporal.

**Palabras clave:** eCG; FSH; eficiencia reproductiva; reproducción animal; tasa de embarazo (*Fuente: USDA*).

## ABSTRACT

**Objective.** To evaluate the efficiency of equine chorionic gonadotropin (eCG) and follicle stimulating hormone (FSH) on the pregnancy rate of crossbred cows from different body condition score (BCS) in the postpartum period in timed artificial insemination (TAI). **Material and methods.** The cows

### Como citar (Vancouver).

Câmara-de-Almeida Í, Albani-Oliveira F, Madureira AP, Barioni G, Alves-Torres CA. Efecto de diferentes promotores de crecimiento folicular y puntaje de condición corporal sobre la inseminación artificial en tiempo fijo en vacas lecheras. Rev MVZ Córdoba. 2021; 26(1):e1966. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1966>



©El (los) autor (es), Revista MVZ Córdoba 2020. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

were subjected to the same hormone protocol: Day zero (D0), progesterone-release intravaginal device (PRID) and 2 mg estradiol benzoate (EB); D8, withdrawal of PRID, application 0.150 mg of prostaglandin. On D8, the animals were distributed into three treatments: 1 - (TeCG; n = 98) injection of 300 IU eCG; 2 - (TFSH; n = 84) injection of 20 mg of FSH and; 3 - (Control; n = 115) without further treatment. On D9, all animals received 1 mg of EB; D10, TAI of all the cows. After 30 days from TAI, ultrasound diagnosis of pregnancy was performed. **Results.** Pregnancy rate did not differ among eCG (52.04%), FSH (40.47%), and Control (40.00%) treated cows ( $p>0.05$ ). In cows with low body condition, the pregnancy rate was higher ( $p<0.05$ ) for cows treated with eCG (41.46%) when compared to FSH (18.18%) and Control (17.07%) cows. The postpartum interval among treatments was similar ( $p>0.05$ ) (35–65 or 66–95days). **Conclusions.** The use of eCG or FSH did not result in an increase in the pregnancy rate when compared to the control treatment; however, eCG improved the pregnancy rate of cows with low body condition scores.

**Keywords:** Animal reproduction; eCG; FSH; pregnancy rate; reproductive efficiency (*Source: USDA*).

## INTRODUCCIÓN

El rebaño lechero brasileño está compuesto predominantemente (74%) de animales cruzados, Holstein x Zebu, que, sumado a los animales no especializados (20%), constituyen el 94% del rebaño. Este panorama demuestra la importancia social y económica de las vacas cruzadas para el país, y su explotación aparece como una alternativa viable para varios sistemas de producción que buscan reducir el costo de los animales bajo pastoreo. Las vacas cruzadas tienen características deseables como la rusticidad, la capacidad productiva y la adaptación a las limitaciones existentes en la mayoría de las granjas, así como una mayor resistencia a las enfermedades y una buena productividad (1).

La reducción del intervalo de parto aumenta el número de nacimientos y la producción de leche durante la vida productiva de las vacas cruzadas. El intervalo de nacimiento de 12 a 13 meses trae beneficios económicos, pero es difícil de obtener en la práctica debido a los problemas de manejo asociados con el ciclo reproductivo de la vaca (2). Las estrategias para anticipar el retorno a la ciclicidad y aumentar la sincronización del estro pueden usarse 30 días después de la concepción en animales con una condición corporal adecuada. En este contexto, existe el uso de protocolos hormonales que apuntan a la inseminación artificial en tiempo fijo (IATF), que apunta a la sincronización e inducción del estro y la ovulación, reduciendo la aparición de fallas en la identificación del estro y el intervalo de nacimientos (3).

Se han utilizado varios protocolos IATF en hembras bovinas, con un uso cada vez mayor

de protocolos basados en progesterona y estrógeno (4). Estos protocolos están asociados con el uso de promotores de crecimiento folicular para aumentar el tamaño del folículo preovulatorio, las tasas de ovulación, la producción de progesterona por el cuerpo lúteo y, en consecuencia, las tasas de embarazo (5,6). Entre los promotores del crecimiento folicular, destacan la gonadotropina coriónica equina (eCG) y la hormona estimulante del folículo (FSH), que son las más recomendadas (7,8). En este contexto, algunos ajustes a los protocolos IATF, incluido el uso de inductores de la ovulación como eCG y FSH, pueden proporcionar una mejora de los resultados en términos de tasa de preñez, ya que las tasas de éxito con IATF son estacionarias alrededor del 35% para el ganado lechero (9).

El objetivo fue evaluar la eficiencia de la gonadotropina coriónica equina y la hormona estimulante del folículo en la tasa de preñez de vacas lecheras cruzadas de diferentes puntajes de condición corporal en el período posparto.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Cuidado animal.** Este trabajo estuvo de acuerdo con los principios éticos para la experimentación con animales, adoptados por el Comité de Ética sobre el Uso de Animales, con el número 017/2014.

**Sitio de Estudio.** El experimento se llevó a cabo en una propiedad ubicada en el Municipio de Dores do Rio Preto, Estado de Espírito Santo, Brasil, ubicada en las coordenadas geográficas 20° 41' Sur, 41° 50' Oeste y 774 m de altitud, entre octubre de 2014 y febrero 2015. El clima

predominante en la región es tropical de gran altitud, con veranos calurosos y lluviosos e inviernos fríos y secos. La temperatura media anual en la región es de 19.2°C y la precipitación anual es de 1.000 mm.

**Animales y alimentación.** Se seleccionó un total de 297 vacas cruzadas de ordeño (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) dentro de la primera y cuarta lactancia en función de sus antecedentes de fertilidad y la falta de signos clínicos de enfermedades infecciosas o metabólicas, retención de placenta o genitales anormales durante el examen ginecológico. Las vacas fueron mantenidas en pasturas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu y agua y sal mineral se administraron *ad libitum* y se suplementaron con concentrado que contenía 22% de proteína cruda a 1 kg/3L de leche.

**Tratamientos experimentales.** Durante la aplicación del dispositivo intravaginal de liberación de progesterona (DILP), se registró el período posparto en relación con el comienzo del protocolo IATF (día 0). También se evaluó la producción de leche y el peso corporal de las vacas (PC). Se midió el puntaje de condición corporal (PCC), variando de uno para vacas muy delgadas a cinco para vacas gordas (10). Las vacas se dividieron uniformemente en grupos según su orden de parto, producción de leche y PCC.

Las vacas fueron sometidas al mismo protocolo de sincronización: día cero (D0), inserción de DILP más inyección intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol (BE); día ocho (D8), se retiró DILP y se inyectaron por vía intramuscular 0,150 mg de prostaglandina (PGF2 $\alpha$ ). En D8, los animales se distribuyeron en tres tratamientos: 1) TeCG: aplicación de 300 UI de eCG (n = 98); 2) TFSH - aplicación de 20 mg de FSH (n = 84) y; 3) Control: sin tratamiento hormonal (n = 115). El día 9 (D9), se administró una inyección intramuscular de 1 mg de BE; el día 10 (D10), las vacas fueron inseminadas artificialmente 52 horas después de la extracción del DILP.

**Variables analizadas.** Las vacas fueron inseminadas artificialmente por el mismo técnico con semen recolectado de toros Girolando, que se obtuvo de la Asociación Brasileña de Inseminación Artificial. El embarazo se determinó 30 días después de la inseminación artificial mediante evaluaciones de ultrasonido y se registró la tasa de preñez en cada tratamiento (número de vacas preñadas dividido por el número total de vacas dentro del tratamiento).

Se evaluó el efecto de los días posparto (DP) y PCC sobre la eficiencia reproductiva de los tratamientos. Las vacas se dividieron en dos subgrupos: las vacas que comenzaron el protocolo IATF entre 35-65 DP y las vacas que comenzaron el protocolo IATF entre 66-95 DP. La tasa de embarazo se determinó de acuerdo con el puntaje de condición corporal, que varió de 2.0 a 3.5 para los animales de cada tratamiento.

**Análisis estadístico.** Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa SAS Studio (11) con una probabilidad de error del 5%, en un diseño completamente al azar, considerando el efecto de los tratamientos. Las variables categóricas se evaluaron mediante la prueba de chi-cuadrado en tablas de contingencia para verificar su asociación o adherencia. Las variables continuas se evaluaron mediante la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para verificar la hipótesis nula de que los datos se muestrearon a partir de una distribución normal (12). Como ninguno se distribuyó normalmente, la evaluación se realizó mediante la prueba de Wilcoxon o el análisis de varianza de Kruskal-Wallis.

## RESULTADOS

Las vacas tenían un peso promedio de 411.3 $\pm$ 26.4 kg, 416.0 $\pm$ 30.4 kg y 418.4 $\pm$ 25.6 kg para TeCG, TFSH y Control, respectivamente. El PCC fue 2.31 $\pm$ 0.2, 2.48 $\pm$ 0.3 y 2.34 $\pm$ 0.2 para TeCG, TFSH y Control, respectivamente. La entrega promedio fue de 2.4 $\pm$ 0.3, 2.2 $\pm$ 0.2 y 2.1 $\pm$ 0.2 para TeCG, TFSH y Control, respectivamente. La producción promedio de leche fue de 11.6 $\pm$ 0.8, 11.2 $\pm$ 0.6 y 11.1 $\pm$ 0.5 litros para TeCG, TFSH y Control, respectivamente, y los días de posparto promedio fueron 59.1 $\pm$ 21.2, 57.5 $\pm$ 20.8 y 60.22 $\pm$ 21.2 para TeCG, TFSH y Control, respectivamente.

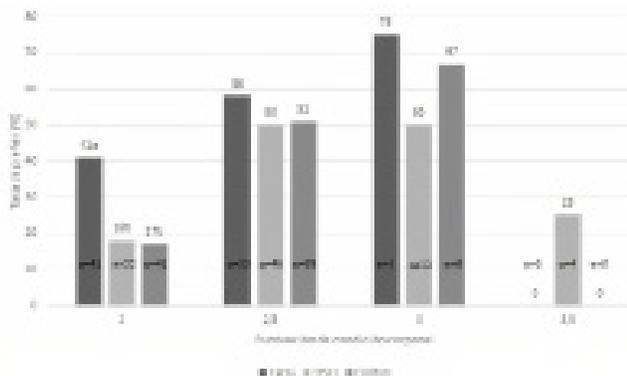
No hubo diferencia estadística entre los tratamientos y la tasa de embarazo (p>0.05; Tabla 1).

**Tabla 1.** Tasa de preñez (%) de vacas sometidas a tratamientos con gonadotropina coriónica equina (TeCG), hormona foliculo estimulante (TFSH) y sin tratamiento adicional (Control).

Tratos	n	P	V	Preñez (%)
TeCG	98	51	47	52.04
TFSH	84	34	50	40.47
Control	115	46	69	40.00
<b>Total</b>	<b>297</b>	<b>131</b>	<b>166</b>	<b>44.10</b>

Prueba de adherencia de chi-cuadrado ( $\chi^2 = 3.26$ ; p = 0.19); n = número de vacas evaluadas; P = número de vacas preñadas; V = número de vacas no preñadas.

Hubo una diferencia entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) en vacas con puntajes bajos de condición corporal (Figura 1). En este contexto, el tratamiento con gonadotropina coriónica equina (TeCG) mostró una tasa de embarazo más alta que los otros tratamientos cuando los animales presentaron un PCC = 2.



**Figura 1.** Tasa de preñez (%) en función de las puntuaciones de condición corporal de las vacas sometidas a tratamientos con gonadotropina coriónica equina (TeCG), hormona estimulante del folículo (TFSH) y sin tratamiento adicional (Control). Prueba de adherencia de chi-cuadrado ( $\chi^2=9.93$ ;  $p=0.007$ ).

En el presente estudio, la tasa de preñez no difirió ( $p > 0.05$ ) en relación con los días transcurridos después del parto al comienzo del protocolo (35-65 días o 66-95 días) de acuerdo con los tratamientos TeCG, TFSH y Control (Tabla 2).

**Tabla 2.** Tasa de preñez (%) de vacas sometidas a tratamientos con gonadotropina coriónica equina (TeCG), hormona foliculoestimulante (TFSH) y sin tratamiento adicional (Control) según los días de posparto (PD), 35-65 y 66-95 días

Tratos	PD	n	P	Preñez (%)
TeCG	35-65	63	33	52.38
	66-95	35	18	54.54
TFSH	35-65	57	22	38.59
	66-95	27	12	44.44
Control	35-65	71	27	38.02
	66-95	44	19	43.18

Prueba de Kruskal-Wallis = 0.014;  $p=0.99$ ; medianas respectivas y rangos intercuartiles (TeCG = 50.0; 40.0-76.0; TFSH = 46.5; 42.0-80.0; Control = 48.5; 40.0-78.0). n=número de vacas evaluadas; P=número de vacas preñadas.

## DISCUSIÓN

Los protocolos de inseminación artificial de tiempo fijo estudiados fueron eficientes para promover el embarazo en vacas lecheras cruzadas en el

período posparto temprano. La tasa de preñez de vacas sometidas a TeCG mostró tasas de preñez consideradas satisfactorias, superiores al 50% (13).

Con la retirada del dispositivo de progesterona intravaginal en los protocolos IATF, es posible inducir un aumento en las frecuencias de los pulsos de la hormona luteinizante (LH) suficiente para el crecimiento final de los folículos dominantes, para estimular el comportamiento del estro y la ovulación (14), un factor que puede explicar por qué los resultados de las tasas de embarazo no difieren entre los tratamientos en el presente estudio.

Los resultados encontrados en el presente estudio corroboran los datos encontrados por otros autores (15), quienes, trabajando con vacas Nelore, no encontraron diferencias en las tasas de preñez al usar eCG como promotor del crecimiento folicular (46.4%) o FSH (46.3%) comparado al control (41.2%). Por otro lado, algunos autores, comparando el uso de eCG y FSH en vacas Cebú, encontraron tasas de preñez de 55.9 y 51.4% respectivamente, que diferían significativamente de las vacas control, con una tasa de preñez de 38.9% (8). Otros autores no informaron diferencias en las tasas de embarazo cuando probaron el uso de eCG (60.2%) o FSH (59.7%); sin embargo, afirmaron una diferencia significativa al comparar tratamientos (eCG y FSH) con 29.9% en vacas en el grupo control (7). Existe una gran diversidad en los tipos de protocolos hormonales para la reproducción de vacas. En este contexto, el éxito de la implementación de esta biotecnología reproductiva, caracterizada por tasas de preñez satisfactorias, también varía, con tasas de preñez que van del 16 al 68% en vacas lecheras (13,16,17,18).

Al trabajar con vacas Nelore en anestro posparto, se encontraron resultados superiores ( $p < 0.05$ ) para las vacas tratadas con eCG (41.5%) en comparación con las vacas tratadas con FSH (22.7%) o control (26.3%). El tratamiento con eCG es superior a los demás (19). Los autores informan que el tratamiento con FSH en el momento de la extracción del dispositivo de progesterona no está indicado en rebaños de ganado, a diferencia de eCG, recomendado para rebaños que tienen un alto porcentaje de vacas en anestro (20). Uno de los motivos de los mejores resultados para eCG, en otros estudios, se atribuye a su concentración de LH. Se sabe que las vacas anestras tienen bajas concentraciones sanguíneas de LH (21). Por lo

tanto, las diferencias de FSH en relación con eCG en la tasa de preñez pueden estar relacionadas con las diferencias entre las concentraciones de LH en la sangre de las vacas.

Se ha informado que eCG es superior a FSH para estimular las tasas de preñez en vacas; sin embargo, otros autores informaron que no hubo diferencias en el uso de FSH y eCG en vacas sometidas a IATF (7,22). Dichos autores también informaron que el eCG tiene un efecto en la FSH y en la LH, y tiene una vida media más larga, permaneciendo activo en la sangre durante más tiempo, de cinco a siete días después de su administración (15). La FSH utilizada en el presente estudio, por otro lado, contenía el 87% de FSH, y su metabolismo parece ser rápido, ya que, después de la administración intramuscular, la vida media y la desaparición de la FSH se estimaron en 5 y 12 minutos, respectivamente (23, 24). Estas diferencias de semivida entre eCG y FSH se informaron en estudios de protocolos superovulatorios, en los que una dosis única de eCG intramuscular fue suficiente para estimular el crecimiento de múltiples folículos (25, 26), mientras que para superovular vacas con FSH es necesario utilizar varias administraciones intramusculares (27).

Los estudios muestran que el uso de eCG mejora la tasa de preñez en el período posparto de las vacas, especialmente con un efecto más pronunciado en aquellas con puntajes bajos de condición corporal. En este trabajo, la tasa de preñez con el uso de eCG (41.46%) demostró ser beneficiosa en vacas con un PCC = 2 (escala de 1 a 5), en comparación con el uso de FSH (18.18%) y el control (17,07%). En corroboración, otros autores encontraron una diferencia en la tasa de preñez con el uso de eCG (66.7%) en comparación con FSH (25.5%) y control (34.7%) en vacas con  $PCC \geq 2.75$ , pero no encontraron diferencias en vacas con  $PCC \geq 2.75$  (19).

Corroborando los resultados del presente estudio, se encontró un efecto positivo del uso de eCG en la tasa de preñez en IATF de vacas *Bos indicus* con  $PCC \leq 3$  (21). El aumento de eCG no es necesario en animales con un buen PCC ( $\geq 2.5$ ) o que son cíclicos, ya que, en estas condiciones, la eCG no promueve una mejora en las tasas de embarazo, puesto que ya se ha alcanzado la puntuación de condición mínima ( $\geq 2.5$ ) recomendada para llevar a cabo protocolos IATF en bovinos (28), un hecho que ayuda a explicar los resultados del presente estudio.

Cuando se administra eCG en el momento de la extracción del dispositivo de progesterona, el folículo dominante tiende a agrandarse después de la interrupción del tratamiento con progestágenos. Por lo tanto, crea condiciones más favorables para el mayor desarrollo del folículo dominante y, en consecuencia, la ovulación, lo que lleva a una mejora en las tasas de preñez para vacas con PCC más bajo (29), un hecho que puede explicar los mejores resultados para el tratamiento con eCG en el presente estudio.

Con respecto a la tasa de embarazos y los días transcurridos después del parto (Tabla 2), otros autores encontraron resultados similares (30), comparando la tasa de preñez de vacas con menos de 45 días (40%) o más de 45 días (48%) posparto, sin diferencia entre tratamientos. Corroborando los resultados del presente estudio, otros autores no encontraron diferencias al analizar las tasas de preñez en vacas con un período posparto temprano (30-60 días) o un período posparto tardío (61-90 días), con tasas de preñez de 45.77 y 48.80%, respectivamente (13).

El uso de promotores de crecimiento como eCG y FSH aumenta la apariencia de la onda LH, y cuando estas hormonas se administran junto con la progesterona y el estrógeno en los protocolos IATF, aumentan la ciclicidad y la tasa de ovulación y embarazo de los animales en el anestro o en un período posparto de menos de 60 días, especialmente en vacas de carne en el período posparto y lactancia (22); hechos que pueden explicar los resultados de este trabajo.

Por lo general, se recomienda un período posparto de 30 días para que ocurra la involución uterina, pero este período puede extenderse hasta 100 días después del parto. Lo ideal es usar vacas durante 45 días después del parto en protocolos IATF (31). Sin embargo, 30 días después del puerperio, ya hay una liberación de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y pulsos de la hormona luteinizante, lo que caracteriza los signos de la restauración del eje hipotalámico-pituitario-ovárico-uterino (32).

Las técnicas destinadas a inducir o sincronizar el estro en el período posparto son esenciales. Estos protocolos que usan progesterona y estrógenos, asociados con promotores del crecimiento folicular, facilitan una acción conjunta para generar cambios hormonales que imitan los eventos fisiológicos en la hembra bovina, y permiten que las vacas en el anestro

reanuden la ciclicidad y puedan establecer antes un nuevo embarazo.

En conclusión, en el presente estudio, el uso de gonadotropina coriónica equina u hormona foliculoestimulante no produjo un aumento en la tasa de embarazo, en comparación con el tratamiento de control, ni influyó en la tasa de embarazo debido a los días transcurridos después del parto. Sin embargo, la gonadotropina coriónica equina mejoró la tasa de preñez de vacas con puntajes bajos de condición corporal.

## Conflicto de intereses

Los autores no tienen conflictos de interés.

## Agradecimientos

El Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil (142545/2009-0) y la Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Brasil, para la financiación del proyecto y la concesión de una beca. La Universidad Federal de Espírito Santo, y la Universidad Federal de Viçosa y, en particular, el Departamento de Ciencia Animal por la oportunidad de llevar a cabo este estudio.

## REFERENCIAS

1. Ferreira Filho JB, Azevedo JAG, Santos AB, Souza LL, Costa LT, Pereira LGR, et al. Sistemas de aleitamento artificial para bezerros em condições tropicais. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2018; 70(4):1257–1265. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9691>
2. Nowicki A, Baranski W, Baryczka A, Janowski T. Ovsynch protocol and its modifications in the reproduction management of dairy cattle herds – an update. *J Vet Res.* 2017; 61(3):329–336. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2017-0043>
3. Melo LF, Monteiro Jr PLJ, Nascimento AB, Drum JN, Spies C, Prata AB, et al. Follicular dynamics, circulating progesterone, and fertility in Holstein cows synchronized with reused intravaginal progesterone implants that were sanitized by autoclave or chemical disinfection. *J Dairy Sci.* 2017; 101:3554–3567. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13570>
4. Pfeifer LFM, Moreira EM, Silva GM, Souza VL, Nunes VRR, Andrade JS, et al. Effect of estradiol cypionate on estrus expression and pregnancy in timed artificially inseminated beef cows. *Lives Sci.* 2020; 231:1–5. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.103886>
5. Pfeifer LFM, Leal SCBS, Schneider A, Schmitt E, Corrêa MN. Effect of the ovulatory follicle diameter and progesterone concentration on the pregnancy rate of fixed-time inseminated lactating beef cows. *R Bras Zootec.* 2012; 41(4):1004–1008. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982012000400024>
6. Pinaffi FLV, Santos ES, Silva MG, Filho MM, Madureira EH, Silva LA. Follicle and corpus luteum size and vascularity as predictors of fertility at the time of artificial insemination and embryo transfer in beef cattle. *Pesq Vet Bras.* 2015; 35(5):470–476. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2015000500015>
7. Rensis F, López-Gatius F. Use of equine chorionic gonadotropin to control reproduction of the dairy cow: a review. *Reprod Dom Anim.* 2014; 49(2):177–182. <https://doi.org/10.1111/rda.12268>
8. Martins CM, Valentim R, Bombonato DS, Santos ICC, Baruselli PS. Efeito do FSH e eCG na dinâmica folicular e na taxa de prenhez de protocolos de IATF em vacas zebuínas em anestro. *Acta Sci Vet.* 2010; 38:731. <http://www.avanticonsultoria.com.br/downloads/avanti03082010.pdf>
9. Lucy MC. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci.* 2001; 84(6):1277–1293. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70158-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70158-0)
10. Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci.* 1989; 72(1):68–78. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79081-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79081-0)
11. SAS Institute Inc. 2014. SAS® Studio 3.2: Administrator's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. <http://support.sas.com/documentation/onlinedoc/forecast/14.2/fsag.pdf>

12. Shapiro SS, Wilk MB. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*. 1965; 52:591–612. <https://www.jstor.org/stable/2333709>
13. Almeida IC, Sobreira RR, Oliveira FA, Garcia YL, Madureira AP, Barioni G, et al. Efeito do protocolo de pré-sincronização em vacas mestiças no período pós-parto. *Rev Bras Med Vet*. 2016; 38(4):353–357. <http://rbmv.org/index.php/BJVM/article/view/54>
14. Ferraz PA, Silva MAA, Carôso BSS, Araujo EAB, Bittencourt TCBSC, Chalhoub M, et al. Effect of eCG on the follicular dynamics and vascularization of crossbred cows with different circulating progesterone concentrations during synchronization of ovulation in an FTAI protocol. *Pesq Vet Bras*. 2019; 39(5):324–331. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5520>
15. Nogueira E, Batista DSM, Costa Filho LCC, Dias AM, Silva JCB, Ítavo LCV. Pregnancy rate in lactating *Bos indicus* cows subjected to fixed-time artificial insemination and treated with different follicular growth inducers. *Rev Bras Zootec*. 2014; 47:358–362. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982014000700003>
16. Silencio LN, Mello MRB, Andrade RB, Daflon Júnior FC, Rodrigues Neto JB, Cavalcante MC, et al. Eficiência de dois protocolos de IATF em vacas leiteiras mestiças em diferentes estações do ano. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária* 2016; 38:169–174. <http://rbmv.org/index.php/BJVM/article/view/183>
17. Almeida IC, Gomes TB, Pinho MM, Siqueira JG, Sena LM, Fontes CAA. Taxa de prenhez em vacas de leite após uso de protocolos hormonais de inseminação artificial em tempo fixo. *R Bras Ci Vet*. 2016; 23:99–103. <http://doi.editoracubo.com.br/10.4322/rbcv.2016.038>
18. Sobreira RR, Almeida IC, Oliveira FA, Siqueira JB, Barioni G, Lima DV, et al. Cipionato de estradiol e benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas mestiças. *Vet Zootec*. 2017; 24:581–591. <https://doi.org/10.35172/rvz.2017.v24.295>
19. Lima LA, Pinheiro VG, Cury JR, Barros CM. Addition of FSH, in contrast to eCG, does not increase pregnancy rates in anestrous Nelore (*Bos indicus*) cows treated with timed AI protocol. *Reprod Fertil Dev*. 2010; 22:170–177. <http://dx.doi.org/10.1071/RDv22n1Ab25>
20. Sales JNS, Crepaldi GA, Girotto RW, Souza AH, Baruselli PS. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. *Anim Reprod Sci*. 2011; 124:12–18. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.007>
21. Sales JNS, Simões LME, Orlandi RE, Lima ES, Santos APC, Bottino MP, et al. Pre-TAI protocol strategies to increase reproductive efficiency in beef and dairy cows. *Anim Reprod*. 2019; 16(3):402–410. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-ar2019-0041>
22. Colazo MG, Mapletoft RJ. A review of current timed-AI (TAI) programs for beef and dairy cattle. *Can Vet J*. 2014; 55(8):772–780. <https://www.canadianveterinarians.net/cvj-cjvr-classified-ads/cvj-current-issue#.UT4qgFcZQwc>
23. Demoustier JM, Beckers JF, Van Der Zwalmen P, Closset J, Gillard J, Ectors FR. Determination of porcine plasma Follitropin-V levels during superovulation treatment in cows. *Theriogenology*. 1988; 30:379–386. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(88\)90185-9](https://doi.org/10.1016/0093-691X(88)90185-9)
24. Murphy BD, Martinuk SD. Equine chorionic gonadotropin. *Endocr Vet*. 1991; 12:27–44. <https://doi.org/10.1210/edrv-12-1-27>
25. Mapletoft RJ, Bó AG, Baruselli PS, Menchaca A, Sartori R. Evolution of knowledge on ovarian physiology and its contribution to the widespread application of reproductive biotechnologies in South American cattle. *Anim Reprod*. 2018; 28(1):1003–1014. <http://dx.doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0007>
26. Hesser MW, Morris JC, Gibbons JR. Advances in recombinant gonadotropin production for use in bovine superovulation. *Reprod Dom Anim*. 2011; 46:933–942. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01767.x>

27. Mikkola M, Hasler JF, Taponen J. Factors affecting embryo production in superovulated *Bos taurus* cattle. *Reprod Fert Dev.* 2019; 32(2):104–124. <https://doi.org/10.1071/RD19279>
28. Tríbulo A, Rogan D, Tribulo H, Tribulo R, Alasino RX, Beltramo D, Bianco I, et al. Superstimulation of ovarian follicular development in beef cattle with a single intramuscular injection of Folltropin-V. *Anim Reprod Sci.* 2011; 129(1–2):7–13. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.10.013>
29. Baruselli PS, Ferreira RM, Colli MHA, Elliff FM, Sá Filho MF, Vieira L, et al. Timed artificial insemination: current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. *Anim Reprod.* 2017; 14(3):558–571. <http://dx.doi.org/10.21451/1984-3143-AR999>
30. Neves JP, Miranda KL, Tortorella RD. Progreso científico em reprodução na primeira década do século XXI. *Rev Bras Zootec.* 2010; 39:414–421. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300046>
31. Silveira AP, Costa MZ, Gabriel Filho LRA, Castilho C. Efeito do período pós-parto sobre a taxa de prenhez de vacas de corte submetidas a IATF (Inseminação artificial em tempo fixo). *Colloq Agrariae.* 2010; 6(2):40–45. <http://revistas.unoeste.br/index.php/ca/article/view/513>
32. Lucy MC. Stress, strain, and pregnancy outcome in postpartum cows. *Anim Reprod.* 2019; 16(3):455–464. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-ar2019-0063>