

EFFECTOS DE HORAS DE INSEMINACIÓN EN TASA DE CONCEPCIÓN DE RAZA SENEPOL EN CLIMA TROPICAL

EFFECTS OF INSEMINATION HOURS ON THE CONCEPTION RATE IN SENEPOL IN TROPICAL CLIMATE

Juliana Figueroa Andrade ^{1*}

¹ Médico Veterinario. Matriculada en Programa de Maestría en Medicina Veterinaria, Mención Salud y Reproducción en Especies Productivas del Instituto de Posgrado. Universidad Técnica de Manabí. Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0000-0000-0000-0000>. Correo: gejuli17@gmail.com

José Arteaga ²

² Docente-Investigador. Carrera de Ciencias Veterinarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Técnica de Manabí. Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/000-0002-2929-0940>. Correo: gregarte3@gmail.com

Pablo Roberto Marini ³

³ Centro Latinoamericano de Estudios de Problemáticas Lecheras (CLEPL). Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario. Argentina. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0826-0387>. Correo: dr.pablomarini@gmail.com

Juan José Zambrano ⁴

⁴ Docente-Investigador. Carrera de Ciencias Veterinarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Técnica de Manabí. Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2635-781X>. Correo: juan.zambrano@utm.edu.ec

*** Autor para correspondencia: juan.zambrano@utm.edu.ec**

Resumen

El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de las horas de inseminación en la tasa de concepción en bovinos de raza Senepol en clima tropical. Se utilizó un total de 50 animales, con respecto a la tasa de preñez se obtuvo un porcentaje del 86%, se lograron mayores tasas de preñez para el Tratamiento 3 y Tratamiento 4 con el 100% del total animales utilizados, sin embargo, la tasa de preñez para el grupo control a nivel del total general de animales no fue significativa con relación a la ventana de inseminación artificial frente al

Tratamiento 1 y Tratamiento 2. Con respecto a la proporción del sexo se estimó que el mayor porcentaje de macho se logra a partir de las 14 horas de IA con una media de 5,00 ($\pm 5,00$) y para obtener mayor número de hembras varía entre las 10 horas de IA con una media de 3,00 ($\pm 1,00$) y 14 horas de IA lo con una media de 5,00 ($\pm 5,00$). Se concluye que el intervalo del tiempo de inseminación artificial mejora la tasa de concepción en bovinos de raza Senepol en clima tropical y no afectaría el porcentaje de variaciones en el sexo.

Palabras clave: Preñez; Sexo; Protocolos; Celo; Ciclo Estral.

Abstract

The objective of the work was to evaluate the effect of insemination hours on the conception rate in Senepol cattle in a tropical climate. A total of 50 animals were used, with respect to the pregnancy rate a percentage of 86% was obtained, higher pregnancy rates were achieved for Treatment 3 and Treatment 4 with 100% of the total animals used, however, the rate of pregnancy for the control group at the level of the general total of animals was not significant in relation to the window of artificial insemination compared to Treatment 1 and Treatment 2. With respect to the proportion of sex, it was estimated that the highest percentage of males is achieved at from 14 hours of AI with an average of 5.00 (± 5.00) and to obtain a greater number of females it varies between 10 hours of AI with an average of 3.00 (± 1.00) and 14 hours of IA lo with a mean of 5.00 (± 5.00). It is concluded that the artificial insemination time interval improves the conception rate in Senepol cattle in a tropical climate and would not affect the percentage of variations in sex.

Keywords: Pregnancy; Sex; Protocols; Heat; Estral Cycle.

Fecha de recibido: 22/06/2022

Fecha de aceptado: 02/08/2022

Fecha de publicado: 16/08/2022

Introducción

Durante las dos primeras décadas, los programas de Inseminación Artificial (IA) después de la sincronización se basaron, en la detección del estro o, alternativamente, en inseminaciones dobles en días consecutivos al sincronizar la ovulación en un período de ocho horas, lo que ha permitido una buena fertilidad para la IA de tiempo fijo sin detección del estro (Taponen, 2009). Controlar el sexo del ternero también puede mejorar la oportunidad de aumentar los ingresos y las ganancias en la industria láctea, es deseable aumentar el número de hembras nacida ya que los terneros machos generalmente tienen un valor económico menor (Crites *et al.*, 2018).

Las prácticas de manejo y factores ambientales influyen en el desempeño reproductivo de un hato lechero, incluida la eficiencia de detección del celo, la edad, la nutrición entre otros factores (Caraviello *et al.*, 2006). La tasa de preñez cada 21 días es una herramienta importante en el desempeño reproductivo porque indica el

número de vacas preñadas entre cada ciclo estral, lo que permite cambios, mejoras rápidas y eficientes en el desempeño reproductivo de las ganaderías (Le Blanc, 2005).

O'Connor (2017) refiere que en un estudio con controles de celo dos veces al día, con vacas inseminadas al final del período de control de celo, con el uso de un sistema de detección de celo de rutina a las 8:00 am y 8:00 pm, esperar 12 horas para inseminar ha dado resultados con una ligera ventaja numérica en la tasa de preñez sobre la inseminación inmediatamente después de que se observó por primera vez el celo (55% vs. 51%) a diferencia de resultados en otros estudios de campo han mostrado una fertilidad casi óptima con una sola inseminación matutina de todas las vacas en celo de la noche anterior, incluidas las que ha estado en celo en la mañana. Nogueira *et al* (2019) menciona que la inseminación artificial realizada casi al momento del estro se asocia con una mayor fertilidad.

El ovocito y espermatozoides tienen una vida limitada en el tracto reproductivo de la hembra lo que es de trascendencia en sistemas productivos que utilizan IA. La hembra bovina posee una fase inicial de estro que dura aproximadamente de seis a ocho horas, y una fase de celo verdadero que dura cerca de 18 horas, momento que coincide con el pico de LH. A las 24 horas desde el momento del celo a la ovulación el ovocito tiene una vida media de 12 horas lo que corresponde a 42 horas desde el inicio del estro hasta el final de la ovulación. El semen de un toro en servicio natural tiene una vida media de 48 horas en el tracto reproductivo de la hembra, se estima que los espermatozoides obtenidos tras eyaculación no poseen las condiciones necesarias para penetrar el ovocito e iniciar el proceso de fecundación porque requieren el proceso de capacitación que ocurre en el tracto reproductivo de la hembra, no obstante con semen congelado la vida media de los espermatozoides se reduce entre 12 y 24 horas lo que dependerá de la fertilidad y calidad de las células espermáticas. Al utilizar semen congelado se retrasa el momento de la IA con respecto al comienzo del estro para asegurar el momento óptimo de células espermáticas sean viables durante la ovulación (Marini y Galassi, 2011).

En base a los argumentos fisiológicos, se fundamenta la utilización del sistema am/pm para detección de celo e inseminación artificial, mostrando evidencia que indican que el momento óptimo para el servicio se presenta entre 6 y 12 horas después del inicio del celo (Marini *et al.*, 2010). La hora de servicio en relación con la demostración del celo en la vaca aumenta el éxito de la tasa de concepción en bovino para carne y leche (Cook *et al.*, 2019). La mejora del porcentaje de concepción se ha atribuido a varios factores, incluida la mejora de la función ovárica, el desarrollo embrionario, así como el establecimiento y mantenimiento de la gestación (Rodrigues *et al.*, 2018).

Los protocolos para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) con dispositivos de progesterona, sales de estradiol y Gonadotropina coriónica equina (eCG) han demostrado ser efectivos aplicándose en la IATF lo que ha favorecido el aumento de tasas de preñez en ganado para leche (Bó *et al.*, 2009). Al considerar las variaciones en los protocolos de sincronización, períodos más largos o más cortos de tratamiento con dispositivo de progesterona (P4) podrían proporcionar beneficios para la fertilidad por lo que se evidenció que los protocolos con seis, siete, ocho y nueve días de tratamiento con el dispositivo P4 tuvieron tasas de preñez similar por AI (Preñez/AI) hasta un 50% (Baruselli *et al.* 2017).

Gamboa (2020) manifiesta que una tasa alta de preñez en ganado Senepol posiblemente ocurre porque las vaquillas tiene un mayor diámetro folicular y cuerpo lúteo posterior a la IATF, por lo que demostró en una investigación realizada en el trópico que el valor obtenido en el estado de preñez de las vaquillas Senepol con la aplicación del protocolo de sincronización J-Synch + eCG, permitió alcanzar mayor ganancia en el sistema, con un beneficio-costo favorable lo que demostró su mejor vialidad económica.

El sexado de espermatozoides ha despertado un gran interés debido a la amplia aplicación en la producción animal, para la determinación del sexo se ha demostrado que el contenido de ADN de espermatozoides portadores de X puede relacionarse con una densidad superior al 0,06% en aquellas células espermáticas (Resende *et al.*, 2011). En la división de células espermáticas se transportan cromosomas sexuales X e Y por ende los ovocitos son todos X, si bien el espermatozoide que se une al ovocito es X dará lugar una ternera, y si es Y a un ternero, las diferencias en la cantidad de ADN de los espermatozoides X e Y es lo que posibilita su separación por lo que asume que los espermatozoides X tienen un 3,8 % más de ADN que los espermatozoides Y (Urbina, 2012).

Yadav *et al.* (2017) indican que, sobre la base de las diferencias teóricas, se han informado numerosos métodos para clasificar los espermatozoides X e Y, métodos que incluyen citometría de flujo, centrifugación en gradiente de percoll y albúmina, swim up, columnas sephadex y antígeno HY, pero en la actualidad, solo la citometría de flujo ha demostrado que clasifica eficazmente los espermatozoides X e Y. El uso de semen sexado para inseminación artificial (IA) y fertilización in vitro (FIV) da como resultado el nacimiento de terneros del sexo deseado con aproximadamente un 90% de probabilidad (Naniwa *et al.*, 2019).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de las horas de inseminación en la tasa de concepción en bovinos de raza Senepol en clima tropical.

Materiales y métodos

El trabajo investigación se llevó a cabo en la Agrícola El Naranjo S. A. en la hacienda el Napo, ubicada en San Vicente Km 4,5 vía a Canoa, Manabí – Ecuador (Coordenadas 0°33'34.4''S; 80°25'23.4''O). Se sincronizó el estro de los animales con dispositivos liberadores de progesterona y aplicaciones de hormonas a diferentes horas (IATF) así como la deferencia de horas en la inseminación.

Selección de animales

Se inició con la selección de los animales que cumplieron con los criterios de inclusión; vacas que no presentaron en su historia problemas reproductivos, más de un parto y menos de cinco partos que no estuviesen gestantes conformadas por chequeo ginecológico y ecografía, se procedió a seguir el protocolo de sincronización del estro utilizado en la finca ganadera, posterior a esto la inseminación de acuerdo con las horas estipuladas en el diseño experimental.

Experimento

Se utilizaron 50 vacas Senepol clasificadas por puntuación de acuerdo con su condición corporal CC (2.5 a 3), no se consideraron animales con los siguientes criterios: presencia de quistes ováricos, cérvix curvo y enfermedades reproductivas.

Las vacas fueron sometidas al siguiente protocolo IATF: en etapas aleatorias del ciclo estral día 0 (D0), las vacas recibieron 2 mg de EB (Sincrodiol®; Ourofino, Brasil) y un dispositivo de progesterona intravaginal (1 g de progesterona – Sincrogest®; Ourofino, Brasil). En D8, se retiró el dispositivo de progesterona y se administró 1mg de ECP (SincroCOP®; Ourofino, Brasil), 300 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) (Sincro eCG®, Ourofino, Brasil) y 2 ml de cloprostenol sódico (Sincrocio®, Ourofino, Brasil).

En el D9, se observaron los animales en tratamiento para evaluar el celo en pie (basado en la actividad de monta, con las vacas marcadas con tinta líquida), el tiempo máximo de inseminación fue entre 8 a 16 horas después de la manifestación del estro con semen congelado distribuidos equitativamente entre tratamientos.

Diseño Experimental

El diseño experimental que se utilizó en el presente estudio fue un Diseño de Bloques completamente al azar con el fin de tener comparaciones precisas entre los tratamientos bajo estudio, se integró un grupo testigo y cuatro tratamientos experimentales y 10 repeticiones.

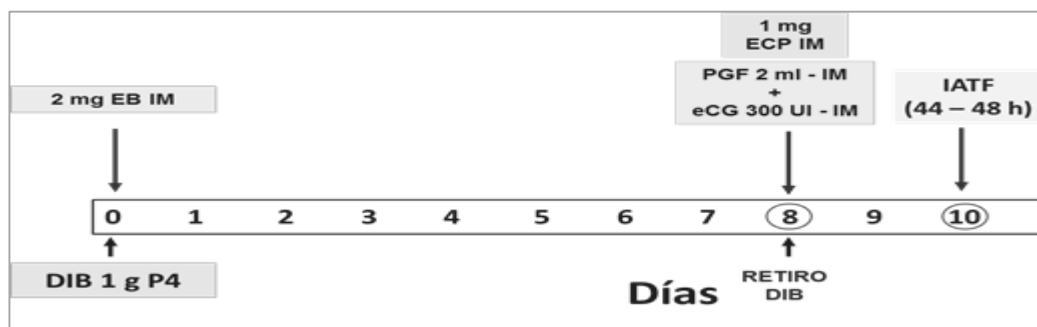


Figura 1. Protocolo Co-Synch 8, ECP= cipionato de estradiol, eCG= gonadotropina coriónica equina, EB= benzoato de estradiol, P4= progesterona, PGF= prostaglandina.

Fuente: Adaptado de Bases farmacológicas y actualización de la sincronización del celo bovino, por Obando, 2020.

Ecografía

Se realizó ecografía (ecógrafo MINDRAY modelo DP-30) transrectal día 45 post IATF para determinar la gestación de los animales en estudio, así como el sexo de las crías.

Análisis Estadístico

Se utilizó el software: EL MINITAB 17 para determinar los grupos al azar. Los datos se ordenaron en Excel para la distribución de los animales según el grupo y tratamiento respectivamente. Para determinar la influencia de las variables gestación por tratamiento y sexo por tratamiento se empleó la prueba Chi-cuadro para asociación. Se utilizó el valor alfa (0,05) para determinar diferencias significativas.

Resultados y discusión

Horas de la Inseminación Artificial

En la tabla 1. Se obtuvo un total de 42 animales gestantes con una tasa de preñez de 84%, se lograron mayores tasas de preñez para el T3 100% (10/10) y T4 100% (10/10) del total animales por tratamiento, la tasa de preñez para el grupo control a nivel del total general de animales gestantes representó un menor porcentaje con relación al tiempo (horas) de inseminación artificial frente a los demás grupos. Se obtuvo una menor tasa de no preñez de del 16% (8/50).

Tabla 1. Asociación de gestación por tratamiento

Tratamientos	Grupo	Tasa de preñez (%)	P
		Cantidad de animales gestantes	
T. Control	12 horas (IA)	60,00% (6/10)	0.044
T.1	8 horas (IA)	70,00% (7/10)	
T.2	10 horas (IA)	90,00% (9/10)	
T.3	14 horas (IA)	100,00% (10/10)	
T.4	16 horas (IA)	100,00% (10/10)	
TOTAL		84,00% (42/50)	

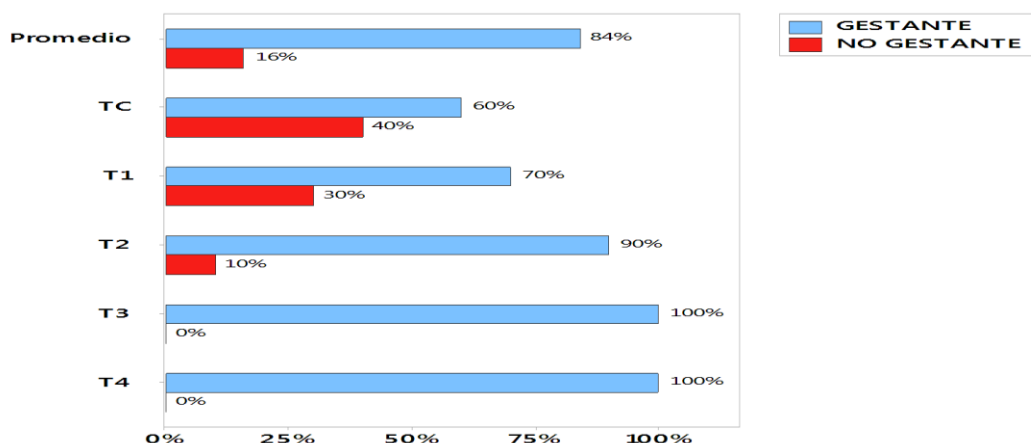


Figura 2. Porcentaje de preñez con respecto (Asociación de gestación por tratamiento)

Los valores de gestación obtenidos en la investigación varía entre los tratamientos 1 hasta el tratamiento 2 incluyendo el grupo control lo que indica que la ovulación es variada en las primeras horas del celo teniendo el mayor número de ovulaciones después de las 12 horas relacionado por el juego hormonal de la sincronización, el uso de los diferentes estrógenos Benzoato al día 0 y Cipionato al día 8, desencadenando el pico de LH de forma tardía sobre las 40 horas post-aplicación (Sales et al., 2012), la concentración de P4 en el dispositivo también influyo en el lapso tardío de la ovulación en los 8 días de uso del mismo, con una diferencia de 73 horas eclosión del folículo (Sales et al., 2015). La tasa de preñez tuvo un efecto significativo en las diferentes horas lo que se relaciona a lo reportado por (Richard *et al.*, 1998) donde encontraron un efecto cuadrático significativo a lo que sugirieron que los períodos intermedios (8, 16 y 24 h) pueden producir la mayor tasa de preñez por IA aunque también pareció afectar el género del ternero, no obstante (Demiral *et al.*, 2007) indicaron que el intervalo entre el inicio del estro y el tiempo de inseminación artificial no altera la proporción de sexos de la descendencia en vacas lecheras. (Roelofs *et al.*, 2006) demostraron en vacas que fueron inseminadas una vez con semen de uno de dos toros de fertilidad probada entre 36 h antes de la ovulación y 12 h después de la ovulación donde se determinó que 64 embriones eran machos o hembras, confirmandose que un 51,6% eran hembras lo que demostró que la inseminación y la ovulación no influye en la proporción de sexos.

Tanto el acceso de los espermatozoides al óvulo como el estado de fertilización y calidad del embrión son importantes para abordar la tasa de preñez para intervalos específicos desde el inicio del estro hasta la inseminación, con base en estos parámetros, se demostró que la inseminación temprana no se logra una tasa de preñez óptima debido al acceso inadecuado de los espermatozoides al ovocito es decir, baja tasa de fertilización, manifestada por un bajo número de espermatozoides, aunque la calidad del embrión fue alta en las primeras inseminaciones, lo que favorece el tasa de concepción (Saacke, 2008). Los espermatozoides capaces de fertilizar los ovocitos llegan al istmo de las vacas aproximadamente ocho horas después de la IA y permanecen en los dos cm caudales del istmo hasta la ovulación por lo que en las 12 a 24 h después de la inseminación, solo un pequeño porcentaje de los espermatozoides permanece en el tracto reproductivo y la mayoría de ellos en la vagina que en efecto se ve reflejado en la tasa de concepción (Hawk, 1987).

Castro (2013) alcanzó porcentajes de preñez en vacas Criollas por Normando donde se analizaron diferentes horarios de inseminación artificial un porcentaje general 63,6 % (n=21) de preñez, con relación a los horarios de inseminación se encontró el 67,6% (n=22) de vacas Inseminadas en las horas de la tarde con un porcentaje de preñez de 65,2 %, mientras que el 32,4 % (n=12) de las IA se efectuaron en la mañana con porcentaje de preñez de 63,6 %, datos que difieren a los reportados en la presente investigación donde se obtuvieron tasa de preñez con relación del horario un promedio del 84%.

Yanzaguano (2013), también evaluó la tasa de preñez en diferentes horas de inseminación a tiempo fijo (0, 10, 20 h) con un protocolo OvSynch en ganado bovino productor de leche donde obtuvieron porcentajes de 22,2 %, 66,7 %, 33,3 % para T1, T2, y T3 correspondientemente lo que difiere a esta investigación donde se logró obtener porcentajes superiores en los diferentes tratamientos. López (2011) evaluó en ganado Holstein Friensian la tasa de fecundación en diferentes tiempos de IA, obtuvo para T1 (8-12 horas), T2 (12-15 horas) y T3 (15-18 horas) diferencia significativa en la tasa de fecundación con relación al T3 obtuvo 86,7 % con respecto al T1= 61,5 % y T2=64,3 %, estos resultados no coinciden con los resultados obtenidos en esta

investigación ya que se obtuvieron porcentajes de preñez que alcanzaron el 100% en T3 y T4, inseminadas a las 14 y 16 horas, aunque la diferencia de preñez en los grupos puede deberse la característica racial, efecto ambiente, calidad del semen y momento de la inseminación.

Proporción de sexos después de la sincronización de la ovulación

Los resultados de la proporción de sexo se muestran en Tabla 2. Se estima que el mayor porcentaje de macho se logra en las 14 horas de IA con una media de 5,00 ($\pm 5,00$), a diferencia en la obtención de hembras que varía entre las 10 horas de IA con una media de 3,00 ($\pm 1,00$) y 14 horas de IA lo que presenta una media de 5,00 ($\pm 5,00$) relacionándose con las horas considerada testigo donde se logró obtener tasas de preñez con proporción de sexo (hembras) con una media de 5,00 ($\pm 5,00$).

Tabla 2. Análisis de la proporción del sexo con relación a la hora de IA.

Tratamientos	Grupo	Proporción del sexo		Cantidad de animales gestantes	P
		Hembras	Machos		
T. Control	12 horas (IA)	67,00% (4/6)	33,00% (2/6)	6/10	0.651
T.1	8 horas (IA)	29,00% (2/7)	71,00% (5/7)	7/10	
T.2	10 horas (IA)	44,00% (4/9)	56,00% (5/9)	9/10	
T.3	14 horas (IA)	60,00% (6/10)	40,00% (4/10)	10/10	
T.4	16 horas (IA)	50,00% (5/10)	50,00% (5/10)	10/10	
TOTAL		50,00% (21/42)	50,00% (21/42)	42/50	

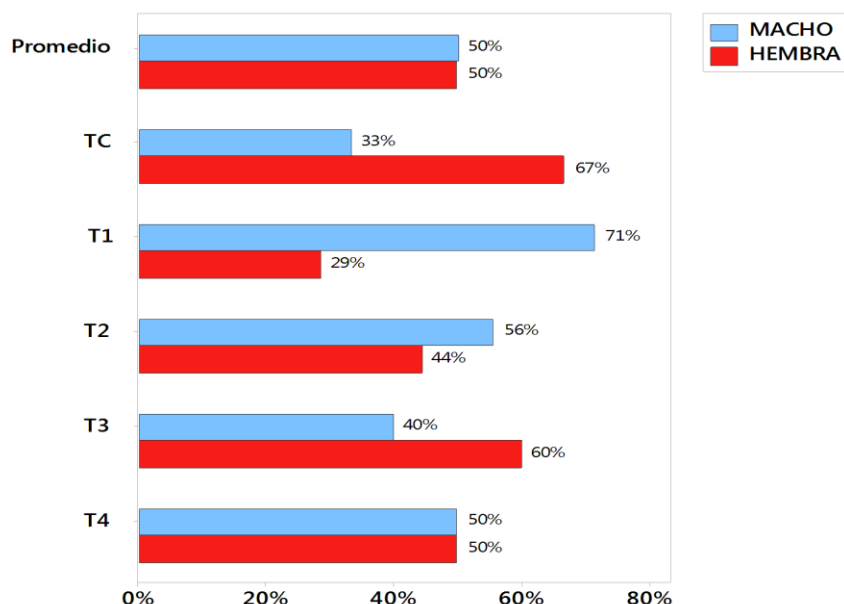


Figura 3. Porcentajes de la proporción de sexos después de la sincronización de la ovulación.

La relación del sexo obtenido en las diferentes horas de la investigación se relaciona con las horas de ovulación, en el grupo control (12 horas celo) con un 60% de gestación y el 67% de hembras a diferencia del tratamiento 1 con el 70% de gestación aumentando el número de embriones de machos en un 71%, efecto que se mantiene en el tratamiento 2, la diferencia de tiempo de inseminación aumenta significativamente los embriones machos (Dominko & Firsti, 1997). Los resultados en los últimos tratamientos difieren a la obtención de machos incrementado los embriones hembras y una similitud de sexos de embriones en el tratamiento 5, atribuido al juego hormonal usado específicamente en esta sincronización tiene un efecto aun no demostrado, los informes contradictorios de los resultados del tiempo de inseminación sobre la proporción del sexo nublan este objetivo, a esto se suma las carencias de las observaciones de las investigaciones que dificultan la estimación de esta proporción del sexo (Rorie, 1999).

Martínez *et al.* (2004) alcanzaron en su investigación un porcentaje de hembras paridas (73,1 %) lo que fue significativamente superior para inseminaciones tempranas (8-18 h), lo que disminuyó 1,9 % por hora desde el inicio del estro, así mismo las IA retardadas ($> 0 = 30$ h) producen una desviación significativa de la proporción de sexos hacia los machos (72,1 %), sin embargo, la fecundidad (porcentaje de preñez exitosa) disminuye significativamente, del 66,19% (8-18 h) al 45,35% ($> 0 = 30$ h), lo que no se relaciona con obtenido en la investigación donde se reporta para proporción 50% para hembras y machos con relación ($> 0 = 16$ h). Tesfu *et al.*, (2014) en vacas inseminados de 8-18 h desde el inicio del estro consideraron inseminación temprana; mientras que los animales inseminados > 18 h también fueron considerados como animales inseminados tardíamente en la observación de los datos se obtuvo un total de terneros ($N = 307$) nacidos por inseminación; 147 (47,9 %) eran hembras y el resto 160 (52,1 %) terneros machos.

En investigaciones realizadas se ha concluido que el tipo de apareamiento (es decir, inseminación natural o artificial) y la raza del toro utilizada para el servicio no afectan significativamente ($P > 0.05$) la probabilidad de que naciera un ternero macho o hembra (Khan y Jalali, 2015).

Conclusiones

La hora de servicio podría mejorar la tasa de concepción en protocolos de IATF en bovinos de raza Senepol en clima tropical. Además, el porcentaje de nacimiento de diferente sexo no estuvo relacionado al criterio horas de servicio utilizado.

Referencias

- Baruselli, P.S., Machado, R., Marcos Henrique Alcantara, M.H., Morag, F., Sá Filho, M.F., Lais Vieira, L., Gonzales de Freitas, B. 2017. Timed artificial insemination: current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. Department of Animal Reproduction, USP, São Paulo, SP, Brazil. DOI: 10.21451/1984-3143-AR999

- Bó, G., Cutaia, L., Souza, A., Baruselli, E. (2009). Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche utilizando dispositivos con progesterona. *Taurus*, Bs. As. 11 (41), 20-34. http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/145-IATF.pdf
- Caraviello, D., Weigel, K., Craven, M., Nordlund, K., Fricke, P., Wiltbank, M. (2006). Analysis of Reproductive Performance of Lactating Cows on Large Dairy Farms Using Machine Learning Algorithms. *Journal of Dairy Science*. 89. 4702 – 4722. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72521-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72521-8)
- Castro, J. (2013). Porcentajes de Preñez y Horarios de Inseminación Artificial en Vacas Criollas X Normando en el Municipio de Ciénega, Boyacá. <http://revistasjdc.com/main/index.php/conexagro/article/view/312>
- Cooke, R., Pohler, K., Vasconcelos, L., Cerri, R. (2019). Estrous expression during a fixed-time artificial insemination protocol enhances development and interferon-tau messenger RNA expression in conceptuses from *Bos indicus* beef cows. *Animal*. 13 (11), 2569-2575. <https://doi.org/10.1017/S1751731119000636>
- Crites, BR., Vishwanath, R., Arnett, A.M., Bridges, P.J., Burris, W.R., McLeod, K.R., Anderson, L.H. 2018. Conception risk of beef cattle after fixed-time artificial insemination using either SexedUltra™ 4M sex-sorted semen or conventional semen. *Theriogenology*. 118. 126-129. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.05.003>
- Demiral, O., Ün, M., Abay, M., Bekyürek, Tayfur. (2007). The Effect of Artificial Insemination Timing on the Sex Ratio of Offspring and Fertility in Dairy Cows. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* v.31. 21-24.
- Dominko, T., & Firsti, N. L. (1997). Relationship Between the Maturation State Of Oocytes At The Time Of Insemination And Sex Ratio Of Subsequent Early Bovine Embryos. *ELSEVIER*, 14(1), 121~128.
- Gamboa, H. X. (2020). *Evaluación de tres protocolos de sincronización para inseminación artificial a tiempo fijo en la respuesta reproductiva de vaquillas senepol*. [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica de Manabí Manuel Félix López]. Repositorio institucional ESPAM – MFL. <http://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1241/1/TTMZ6.pdf>
- Hawk, 1987. Transport and Fate of Spermatozoa After Insemination of Cattle. *J Dairy Sci.* v.70 (7): 1487-503. doi: 10.3168 / jds.S0022-0302 (87) 80173-X.
- Khan, M.I., Jalali, S., Shahid, B., Aslam, S. 2015. Effect of Artificial Insemination and Natural Service on Calf Sex Ratio in Dairy Cattle. *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences.* v.52 (1): p.63–66
- Le Blanc, S. (2005). Using DHI Records On-Farm to Evaluate Reproductive Performance. *Advances in Dairy Technology.* v.17. p.319. https://wcds.ualberta.ca/wcds/wp-content/uploads/sites/57/wcds_archive/Archive/2005/Manuscripts/LeBlanc2.pdf
- Marini, P.R., Galassi, I. 2011. Relación entre celo–inseminación con semen sexado y porcentaje de preñez en vaquillonas Holstein. *Rev. Vet.* 22: 1, 52–54.
- Marini, P.R., Galassi, I., Di Masso, R.J. 2010. Relación entre el lapso detección del celo-inseminación y el porcentaje de preñez en vacas lecheras Celo-inseminación y porcentaje de preñez. *In Vet.* 12(1), 69-73.

- Martínez, F., Kaabia, M., Martínez, F.P., Álvarez M., Anela, E., Boixoc, J.C., De Paz, P., Anela, L. (2004). Effect of the interval between estrus onset and artificial insemination on sex ratio and fertility in cattle: a field study. *Theriogenology*. V.62, p.1264-1270. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.01.002>
- Naniwa, Y., Sakamoto, Y., Toda, S. y Uchiyama, K. (2019). Tecnología de selección de sexo de espermatozoides bovino en Japón. *Medicina y biología reproductiva*, 18 (1), 17-26. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12235>
- O'Connor, M. L. (17 de mayo de 2016). Detección de celo y momento de inseminación para ganado. *Penm state Extension*. <https://extension.psu.edu/heat-detection-and-timing-of-insemination-for-cattle#section-26>
- Resende, A.C., Lucio, A.P., Perini1, L.Z., Oliveira1, A.O., Almeida1, B.C.A, Alves, C.A., Moreira, I.W. Santos, V.F.M.2011 Hossepian de Lima. Comparative validation using quantitative real-time PCR (qPCR) and conventional PCR of bovine semen centrifuged in continuous density gradient. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.v.63, n.3, p.544-551.* <https://www.scielo.br/pdf/abmvz/v63n3/v63n3a02.pdf>
- Richard, J.P., Silcox, R.W., Milo C. Wiltbank, M.C. (1998). Effect of Time of Artificial Insemination on Pregnancy Rates, Calving Rates, Pregnancy Loss, and Gender Ratio After Synchronization of Ovulation in Lactating Dairy Cow. *Journal of Dairy Science* v.81, p. 2139-2144. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75790-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75790-X)
- Rodrigues, A., Cooke, R., Cipriano, R., Silva, L., Cerri, R., Cruppe, L., Meneghetti, M., Pohler, K., Vasconcelos, J. (2018). Impacts of estrus expression and intensity during a timed-AI protocol on variables associated with fertility and pregnancy success in Bos indicus-influenced beef cows. *J Anim Sci*. 15. 236-249. 10.1093/jas/skx043
- Roelofs, J.H., Bouwman, E.B., Pedersen, H.G., Riestra, Z., Soede, N.M., Thomsen, P.D., Kemp, B. 2011. Effect of time of artificial insemination on embryo sex ratio in dairy cattle. *Anim Reprod Sci*. 93(3-4):366-71. doi: 10.1016/j.anireprosci.2005.09.004.
- Rorie, R. W. (1999). Effect of timing of artificial insemination on sex ratio. *Theriogenology*, 52(8), 1273–1280. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00216-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00216-2)
- Sales, J. N. S., Carvalho, J. B. P., Crepaldi, G. A., Cipriano, R. S., Jacomini, J. O., Maio, J. R. G., Souza, J. C., Nogueira, G. P., & Baruselli, P. S. (2012). Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in Bos indicus cows submitted to a timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*, 78(3), 510
- Sales, J. N. S., Carvalho, J. B. P., Crepaldi, G. A., Soares, J. G., Giroto, R. W., Maio, J. R. G., Souza, J. C., & Baruselli, P. S. (2015). Effect of circulating progesterone concentration during synchronization for fixed-time artificial insemination on ovulation and fertility in Bos indicus (Nelore) beef cows. *Theriogenology*, 83(6), 1093–1100. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.12.009>
- Saacke, R.G. 2008. Insemination factors related to timed AI in cattle. *Theriogenology*. 70(3), 479-84. doi: 10.1016/j.theriogenology.2008.04.015.
- Taponen, J. 2009. Fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Acta Vet Scand*. vol. 51(1): 48. doi: 10.1186/1751-0147-51-48

- Tesfu, F., Gebrekidan, B., Afera, B. Assessment and Comparison of Sex Ratio Following Artificial Insemination and Natural Mating in Small Scale and Modern Dairy Cattle Farms in Mekelle. *Journal of Reproduction and Infertility*. v.5 (2). 58-64,
- Urbina, C. 2012. Utilización de semen bovino sexado en inseminación artificial: transferencia. Cuenca: Universidad de Cuenca. Tesis. Med. Vet. p.27. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/439/1/TESIS.pdf>
- Yadav, SK, Gangwar, DK, Singh, J., Tikadar, CK, Khanna, VV, Saini, S., Dholpuria, S., Palta, P., Manik, RS, Singh, MK y Singla, SK (2017). Un enfoque inmunológico de la determinación del sexo de los espermatozoides y diferentes métodos para la identificación de espermatozoides portadores de cromosomas X e Y. *Mundo veterinario*, 10 (5), 498–504. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.498-504>
- Yanzaguano, C. (2013). Evaluación de la tasa de preñez utilizando inseminación artificial a tiempo fijo a 0-10-20 horas post aplicar el protocolo de sincronización ovsynch. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5536/1/UPS-CT002769>.