

# Actividad Ovárica y Tasa de Gestación en Novillas Suplementadas en el Trópico Húmedo de Costa Rica

Alejandro Jiménez J. MVZ., M.C.<sup>4</sup>, Carlos Galina H. MVZ., PhD.<sup>4</sup>, Sandra Estrada K. MV., M.R.<sup>1</sup>, Jaime Galindo B. MV., MSc<sup>2</sup>, José Pablos H. I.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Salud de hato. Escuela de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional. Heredia. Costa Rica.

<sup>2</sup>Escuela de Agronomía. Instituto Tecnológico de Costa Rica. San Carlos, Alajuela. Costa Rica.

<sup>3</sup>Departamento de Genética y Bioestadística. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.

<sup>4</sup>Departamento de Reproducción. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.

Email: [jimenezalejandro@comunidad.unam.mx](mailto:jimenezalejandro@comunidad.unam.mx)

## Resumen

Se determinó el efecto de la suplementación sobre la actividad ovárica y tasa de gestación en novillas *Bosindicus* (n=41) nulíparas de dos a tres años, divididas aleatoriamente en dos grupos: el suplementado (GS n=21) con un concentrado comercial (13,5% PC, 2,850 Mcal ED/kg MS) a razón del 1% del peso; con un periodo de 15 días de adaptación más 30 de suplementación y el testigo (GNS n=20). Ambos pastando Estrella Africana (*Cynodonplestostachium*), Ratana (*Ischaemumindicum*) y Tanzania (*Panicummaximum*); agua y sales minerales *ad libitum*). Las hembras se sincronizaron con Crestar® y servidas con dos toros de fertilidad probada. El diseño experimental fue al azar utilizando el programa estadístico JMP 10® de SAS Institute Inc. para el análisis. La condición corporal (CC) y grasa dorsal (GD) no son diferentes (P>0.05) así como los porcentajes entre grupos para actividad ovárica (ciclicidad y estructuras ováricas), tasa de preñez, los eventos de ciclicidad y gestación a lo largo del tiempo (P>0.05). La estimación de ocurrencia de la gestación en función del suplemento y la ciclicidad, según el modelo: Gest = f(GEST, CYC, TRAT) no mostró efecto del tratamiento (P>0.05) pero si significancia en los momentos de detección de la gestación (día 33 y día 45 respectivamente) entre grupos (P< 0.0001). En conclusión, el método de suplementación ensayado no tuvo mayor efecto sobre las variables estudiadas.

**Palabras clave:** suplementación. *Bosindicus*, trópico, gestación, actividad ovárica, novillas.

## 1. Introducción

La selección y manejo de novillas de reemplazo en el trópico es un factor importante en esta ganadería la cual depende del pastoreo, recurso limitado en la época seca por la escasez del forraje o de pobre contenido energético (Córdova, 1996). La calidad nutricional de los forrajes deriva del clima y su estado de maduración principalmente (Mendoza y Ricalde, 2006). Desde que

se conoce la relación entre nutrición y reproducción, esencialmente notoria en el trópico donde la desnutrición es la principal causa que dificulta la producción (Galina y Arthur, 1989, Randel, 1990) se han puesto en práctica alternativas como la suplementación en épocas críticas del año a corto plazo en novillas, particularmente antes del empadre a fin de incrementar los parámetros productivos (Peiris y col., 1995; Cabrera y col., 2000), teniendo resultados

variables atribuibles al entorno y propios del animal (Aranda y col.,2001; Maquivar y col., 2010). Soto-Camargoy col., (1997a y b) en un par de estudios evaluaron su efecto en novillas Brahman en pastoreo, encontrando que mejoran la ganancia diaria de peso y la condición corporal (CC) pero no la actividad ovárica. Asimismo, aumenta la respuesta a la sincronización del celo, fertilidad y servicios por concepción. Por otro lado, Cavalieri y Fitzpatrick (1995) observaron que novillas con una mayor tasa de crecimiento y CC, tenían mejor probabilidad de iniciar ciclos estrales y quedar gestantes bajo programas de inseminación artificial. En esquemas de monta natural, Maquivar y col., (2006) trabajaron novillas F1 (*Bostaurus x Bosindicus*) entre 24 a 36 meses de edad demostrando mejoras en el inicio de los ciclos estrales y aumento en la respuesta a la sincronización. Respecto a la tasa de gestación, en un estudio australiano a largo plazo (Seibert y col., 1976), mostraron que suplementar no afecta la tasa de concepción en novillas y Soto y col., (2001) al monitorear novillas hasta el primer parto, suplementadas previo al empadre, concluyeron que esto no resuelve los largos intervalos entre partos. Los anteriores trabajos denotan que la respuesta al concentrado en términos de eficiencia reproductiva es discrepante sobretudo en la preñez. Por lo que se plantea el presente estudio a fin de evaluar el efecto de la suplementación sobre la actividad ovárica y tasa de gestación en novillas *Bosindicus* en condiciones del trópico húmedo de Costa Rica.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1. Localización

El experimento se realizó en la estación experimental “La Balsa”, del Instituto Tecnológico de Costa Rica

(ITCR) sede San Carlos, localizado en el cantón de San Ramón, Provincia de Alajuela (10° 25´ N y 84° 32´O) a una altura de 172 metros sobre el nivel del mar, temperatura promedio de 27.3°C, precipitación anual de 3062 mm y humedad relativa del 85.3%. El clima predominante es de tipo tropical ecuatorial lluvioso con precipitaciones tipo monzón y seco en invierno Afmw (<http://www.imn.ac.cr/>).

### 2.2. Grupos experimentales y fases del estudio

Se utilizaron 41 novillas *Bosindicus*, nulíparas, con un peso promedio de 307kg, de entre dos y tres años de edad. Estas fueron divididas aleatoriamente en dos grupos: el suplementado (GS n=21) recibió concentrado comercial Citrocom® (Peletizado) Casa Dos Pinos, Costa Rica (13,5% PC, 2,850 Mcal ED/kg MS) a razón de 1% del peso vivo y el testigo (GNS n=20) sin suplemento. Ambos pastando Estrella africana

(*Cynodonplestochium*), Ratana (*Ischaemumindicum*) y Tanzania (*Panicummaximum*) con agua y sales minerales *ad libitum* (Ganafos Plus® Piensos S.A., Costa Rica).

### 2.3. Fases de estudio

#### 2.3.1. Fase de suplementación (FS):

Inicio a finales de la época de secas con una duración de 54 días; comprendió la adaptación al concentrado (15 días), la suplementación (30 días) y la sincronización del celo (9 días). Durante esta fase se estimó la CC, se midió la grasa dorsal (GD) y se tomaron muestras sanguíneas para la determinación de progesterona (P<sub>4</sub>) en suero (Imagen 1).

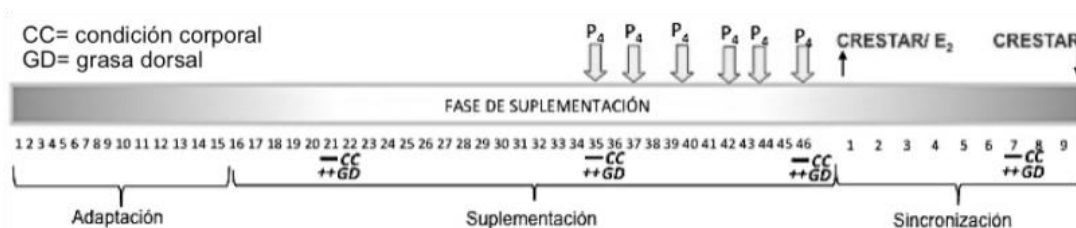


Imagen 1, Cronograma de la fase de suplementación.

### 2.3.2. Fase de pos suplementación o de empadre (FPS)

Dio inicio al término de la sincronización y con la entrada de los toros (día cero) quienes estuvieron con las vacas hasta el fin del experimento (día 59). Durante

esta fase se registraron los mismos parámetros que en la fase previa además de evaluaciones con ultrasonido (US) para cuantificar estructuras ováricas y diagnosticar gestación temprana (Imagen 2).

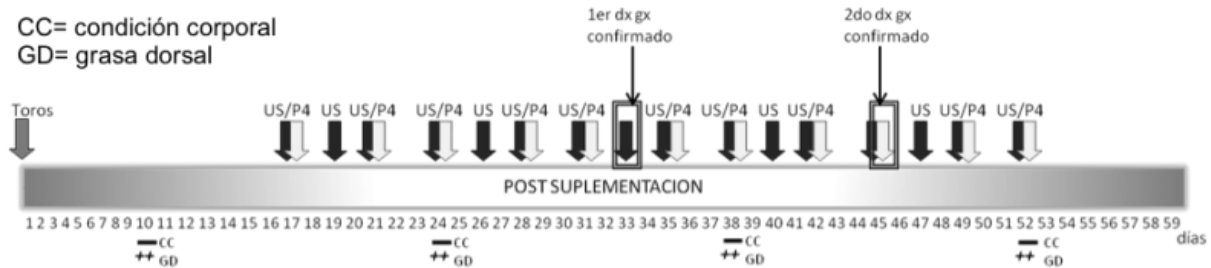


Imagen 2, Cronograma de la fase pos suplementación.

### 2.4. Estimación de condición corporal y medición de grasa dorsal

Se estimó la CC de acuerdo a la escala modificada por Edmonson y col., (1989) rango 1 a 5, donde 1 denota una vaca emaciada y 5 una obesa. La GD se midió por US en la región de la grupa paralela a la vértebra sacra entre la tuberosidad coxal y la tuberosidad isquiática, según Schröder y Staufenbiel (2006) con un equipo ALOKA SSD-210DXII con transductor sectorial de 3.5 MHz (ALOKA®, Tokio, Japón). Ambos parámetros se midieron con una periodicidad de quince días hasta el final del estudio; obteniéndose en total ocho muestreos, cuatro durante la FS y FPS respectivamente (Imagen 1 y 2).

### 2.5. Sincronización y estimación del celo

Al término de la suplementación ambos grupos se sincronizaron mediante un implante auricular de P<sub>4</sub> sintética (3mg) Crestar® (Intervet® México) más una inyección intramuscular de 1ml de Estradiol (E<sub>2</sub>) al momento de la inserción del implante, el cual permaneció *in situ* por nueve días (Imagen 1). Posterior al retiro del mismo, las hembras fueron servidas por dos toros con capacidad reproductiva probada. La inclusión de parches EstrusAlert® colocados en la grupa permitió detectar las hembras que fueron montadas.

### 2.6. Diagnóstico de gestación y Estructuras ováricas

Se consideró el día cero del empadre a las dieciocho horas posteriores a la sincronización y entre los días 19 a 21 (Imagen 2) se iniciaron US con un transductor de 7.5-MHz (ALOKA®, Tokio, Japón) tres veces por semana para detectar gestación temprana en ambos grupos. Bajo el criterio de que si en el primer monitoreo se observaba el embrión se ratificaba en el siguiente. La permanencia de los animales en el experimento terminó al momento de realizar el segundo diagnóstico positivo de gestación. Para esto se utilizó el método propuesto por Rosiles y col., (2005). Aquellas que resultaran vacías, eran sometidas de nuevo a diagnóstico tomándose definitivamente como no gestantes si al término de la FPS no se encontraba el embrión. Se registraron dos momentos de detección: animales con preñez positiva al día 33 y al día 45 respectivamente, contados a partir de la entrada de los toros (Imagen 2). A la par, observaciones por US de las estructuras ováricas (folículos en crecimiento y cuerpos lúteos) fueron realizadas y clasificadas según lo descrito por Sirois y Fortune (1988) y concluidas cuando la gestación era confirmada.

### 2.7. Obtención y manejo de Muestras Biológicas

Se tomaron muestras sanguíneas por venopunción de la vena coccígea, (7 a 10 ml) colectadas en tubos Vacutainer® para medir la concentración de P<sub>4</sub> en

suelo en ambas fases experimentales. Hacia la mitad de la suplementación dos veces por semana (Imagen 1) a fin de diferenciar a los animales ciclando, y de nuevo con la misma periodicidad al inicio de los monitoreos con US (Imagen 2) para corroborar la presencia de un cuerpo lúteo (CL) funcional en las vacas gestantes. Las muestras se centrifugaron a 3500 rpm (2000xg) por 15 minutos para obtener el suero depositado luego en alícuotas debidamente identificadas y congeladas a -4°C para su posterior análisis por radioinmuno ensayo en fase sólida (RIA por sus siglas en inglés) con kits comerciales (Coat-A-Count, Diagnostic Products Corp., Los Ángeles, CA, USA), según lo propuesto por Pulido y col., (1991). Todas las muestras se analizaron en el mismo ensayo y se obtuvo un coeficiente de variación intraensayo (CVI) de 8.3%. Se consideró que la novilla había ovulado si las concentraciones de P<sub>4</sub>

eran mayores de 1ng/ml en al menos 2 muestras consecutivas (Gutiérrez y col., 1994) y de igual modo, superiores a 3ng/ml (Lamming y Darwesh, 1995) indicaban una posible gestación. El análisis y procesamiento final se realizó en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la UNAM, dentro del Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Reproducción.

**2.8. Esquema experimental**

EIGS y GNS fue el tratamiento (factor A); los ensayos de P<sub>4</sub> formaron el factor B: ciclo en FS, FPS y no ciclo, cruzado con el factor A; el factor C lo constituyeron: gestantes y no gestantes, anidado en el factor B; y conforme la preñez era confirmada se formó el factor D: momento de detección 1 y 2, anidado en el factor C (tabla I).

**Tabla 1,** Observaciones del diseño de factor anidado incompleto 2x2 con desigual número de repeticiones.

		FACTOR B						Σ	
		Ciclo en FS		Ciclo en FPS		Ciclo FS	Ciclo FPS		No ciclando
		Gestantes (FACTOR C/B)				No Gestantes (FACTOR C/B)			
FACTOR A	FACTOR D/C	Detección 1	Detección 2	Detección 1	Detección 2				
		GS	2	3	4	1	2	4	5
	GNS	2	4	1	6	1	2	4	20
	Σ	4	7	5	7	3	6	9	41

El diseño experimental fue completamente al azar, (Kuehl, 2001), las variables respuesta fueron: CC, GD, ovulación, estructuras ováricas y tasa de gestación; para el análisis estadístico se utilizó el programa JMP 10 ® de SAS Institute Inc.

**2.9. Análisis estadístico**

**2.9.1. Condición corporal y Grasa dorsal**

Se realizó una comparación de medias (ANDEVA) para determinar el efecto del tratamiento (GS y GNS), tanto en la GD como en la CC (Kuehl, 2001).

**2.9.2. Ovulación, estructuras ováricas y tasa de gestación**

Se realizó una comparación de proporciones con la prueba Z (Dawson-Sanders y Trapp, 1997) para los porcentajes de ovulación (ciclo en FS, FPS y no ciclo), estructuras ováricas (folículos ≤3mm, 5-7mm, ≥8mm y CL) y tasa de preñez. El comportamiento de los animales ciclando y de las gestantes se evaluó con base en las concentraciones de P<sub>4</sub> por medio de curvas de sobrevivencia de Kaplan-Meier que estiman la ocurrencia de un evento a través del tiempo comparando las curvas estimando si existe diferencia entre ellas.

### 2.3.4. Ocurrencia de la gestación

Con base al Tabla I se realizó un modelo de regresión logística nominal para estimar la máxima probabilidad de que ocurra la gestación utilizada como variable dependiente y determinar posibles asociaciones con: los momentos en que fue diagnosticada, la ovulación y la suplementación. Según la siguiente ecuación:

$$\text{Gest} = f(\text{GEST}, \text{CYC}, \text{TRAT})$$

Donde:

Gest= asociación de la presencia o ausencia de gestación.

GEST= asociación que considera tres posibles circunstancias, momento de detección 1, momento de detección 2 y no gestantes.

CYC=asociación que considera tres posibles circunstancias, ciclicidad en FS, en FPS y no ciclando.

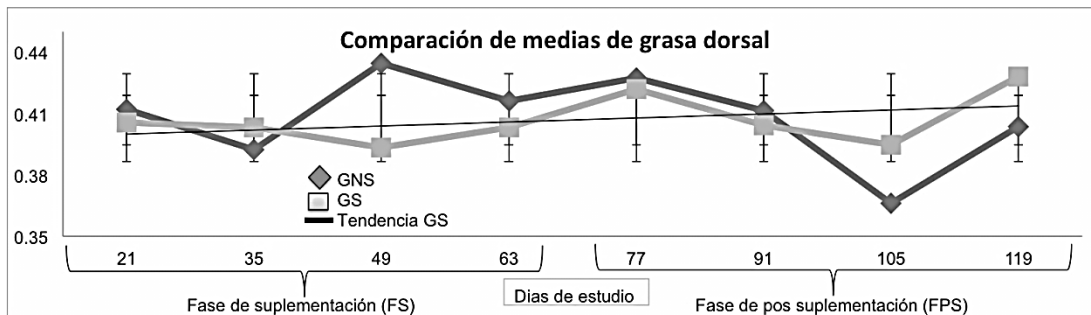
TRAT= asociación que considera el GS y el GNS

## 3. Resultados

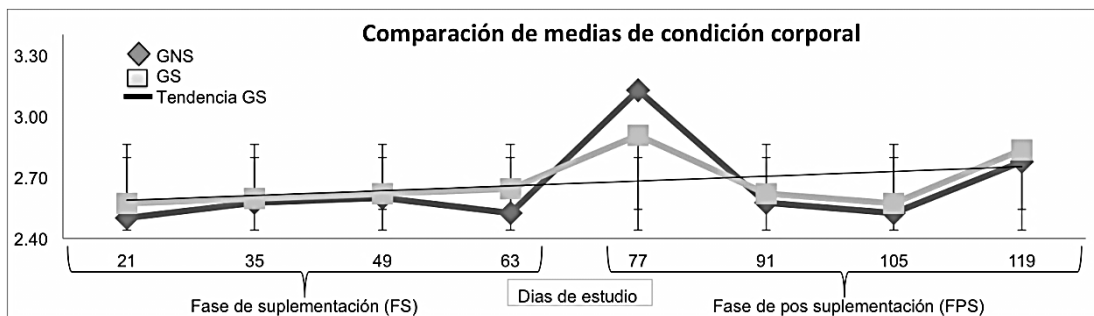
### 3.1. Grasa dorsal (GD) y condición corporal (CC)

En la Imagen 3 se observa la media de GD para ambos grupos (GS y GNS) a lo largo del estudio, el GNS muestra una mayor GD al final de la fase de suplementación (FS) la cual va en descenso durante el resto del experimento excepto entre los días 105 a 119 correspondientes a la fase de pos suplementación (FPS); en contraste, el GS es más homogéneo y con ligera tendencia a la alza desde el día 49 y hasta el día 119 donde alcanza su punto más alto. No existieron diferencias significativas entre las medias durante todo el estudio ( $P > 0.05$ ).

Respecto a las medias de CC para el GS y GNS son muy similares (Imagen 4), conservando un rango entre 2.4 a 2.7 puntos durante la FS. Entre los días 63 a 77 ambos registran un aumento numérico (inicio de la FPS) superior en el GNS la cual decrece para el día 91, a partir de este punto y hasta el final del estudio el GS mantiene una discreta tendencia a la alza al final de esta ( $P > 0.05$ ).



**Imagen 3.** Comparación de medias de grasa dorsal durante la fase de suplementación (FS) y pos suplementación (FPS) en el grupo suplementado (GS) y no suplementado (GNS) respectivamente.

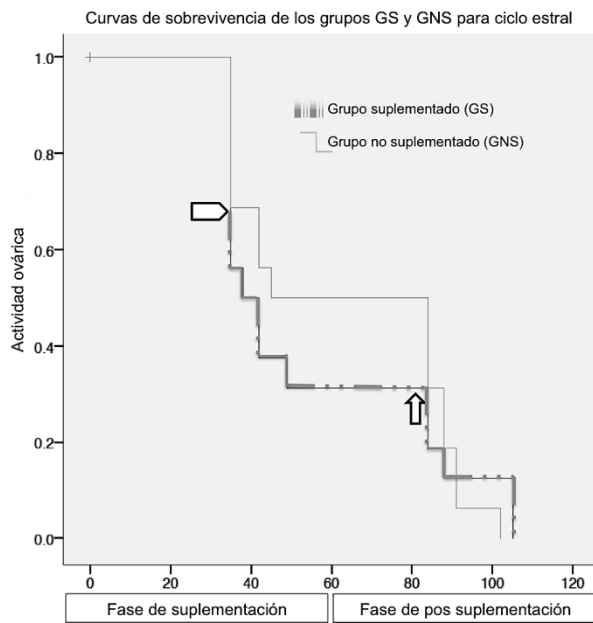


**Imagen 4.** Comparación de medias de condición corporal durante la fase de suplementación (FS) y pos suplementación (FPS) en el grupo suplementado (GS) y no suplementado (GNS) respectivamente.

**3.2. Actividad ovárica**

La ciclicidad general durante el estudio mostró una escasa variabilidad en las proporciones entre grupos, siendo ligeramente mayor en el GNS durante la FS (38 vs 35%) tendencia que se invierte para la FPS con predominancia del GS (45 vs 38%) y se registró un 20 vs 24% entre el GS y GNS respectivamente para los animales que no ciclaron. Sin embargo estas diferencias no fueron significativas ( $P>0.05$ ).

La Imagen 5 muestra los eventos de solamente los animales que ciclaron durante el estudio (FS y FPS). De este modo, se observa que el GS inicio ligeramente antes sus ciclos estrales respecto al GNS; poco después de la mitad de la FS (pentágono irregular) manteniendo esa precocidad al menos hasta el día 80 del estudio (flecha) tendencia que se invierte al final a favor del GNS. Sin diferencia significativa entre ellas ( $P>0.05$ ).



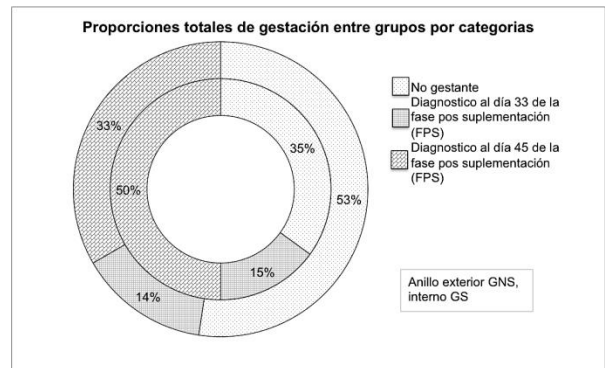
**Imagen 5,** Curvas de sobrevivencia de Kaplan-Meier de los grupos (GS y GNS) para la variable ciclo estral a lo largo del estudio.

Se realizó un conteo de las estructuras ováricas presentes durante todo el estudio en ambos grupos (GS y GNS) y se categorizaron por diámetro folicular las variaciones entre categorías son mínimas ( $\leq 3\text{mm}$ , 5 a

7mm,  $\geq 8\text{mm}$  y CL). Se registró ligera superioridad numérica en las últimas dos categorías en el GS ( $P>0.05$ ).

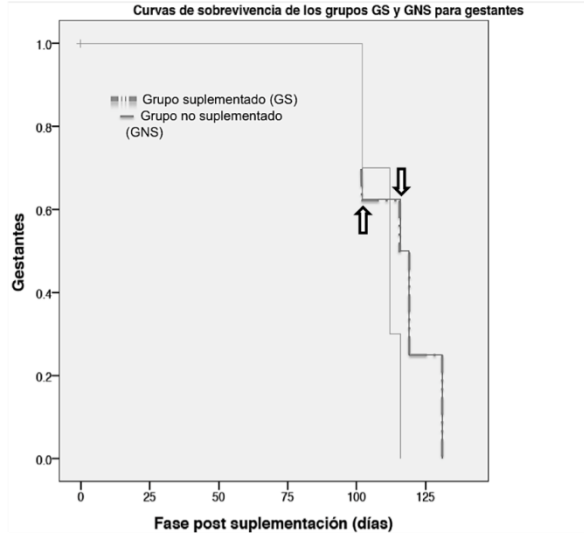
**3.3. Tasa de gestación y momentos de detección**

La tasa de gestación general durante el estudio se ilustra en función del momento en que esta fue diagnosticada (Imagen 6), como podrá observarse existió una diferencia porcentual entre los animales diagnosticados al día 45 de la FPS superior en el GS (50 vs 33%) con respecto al diagnóstico al día 33 donde la diferencia entre grupos es mínima (15 vs 14%).



**Imagen 6,** Proporciones totales de gestación entre las categorías: gestación al día 33 y al día 45 en la fase pos suplementación (FPS) y no gestante; en el grupo suplementado (GS) y no suplementado (GNS) respectivamente. Sin significancia ( $P>0.05$ ).

La Imagen 7 muestra solo los eventos de los animales gestantes durante la FPS. Se observa una ligera precocidad al día 100 del estudio en el GS (flecha hacia arriba) respecto al GNS, que se corresponde al día 33 post empadre o primer momento de detección con US; poco después la tendencia se invierte. La fecha hacia abajo (día 112 del estudio) marca el momento del segundo diagnostico por US (día 45 post empadre) donde a través del tiempo se registraron más eventos en el GS a pesar de ello esto no fue suficiente para mostrar una diferencia significativa ( $P>0.05$ ).



**Imagen 7.** Curvas de sobrevivencia de Kaplan-Meier de los grupos (GS y GNS) para la variable gestantes durante la fase post suplementación.

El modelo de regresión logística nominal basada en el Tabla I encontró un efecto positivo en los momentos de detección de la gestación ( $P < .0001$ ) indicando un fuerte efecto predictivo (con 1.5 más de probabilidad de éxito de que se detecte la gestación al día 45) sugiriendo mayor certidumbre en diagnósticos precoces.

#### 4. Conclusiones

La suplementación no fue un factor definitivo debido posiblemente a que la calidad nutricional del forraje era suficiente quizá por su buen manejo y adecuado crecimiento durante la época de lluvias (Alonso-Díaz y col., 2007). Se sabe que la respuesta animal al concentrado está en función de diversos factores tales como el consumo de materia seca (MS), la calidad y cantidad del forraje disponibles influenciados directamente por el clima. Se ha sugerido que el consumo de MS aumenta con la suplementación, particularmente si el contenido de proteína cruda (PC) del pasto es inferior al 6% (Aranda y col., 2001). Estos investigadores mencionan que un alimento concentrado ha de proporcionar primero nutrientes para la microflora ruminal mejorando la fermentación y en segundo plano suplir las deficiencias del forraje de

forma que se incremente el consumo voluntario y se eviten pérdidas de peso y CC. En efecto, la ingesta de MS que permita a la vaca llegar a un balance energético positivo (BNP) reflejado en la CC es proporcional al incremento de PC hasta en un 8%, consumos superiores de MS no son influenciados por la concentración de PC fenómeno descrito tiempo atrás (Minson 1971). En el presente estudio, los resultados indican que la PC no afectó negativamente el consumo de MS por el contrario, es factible que la suplementación favoreciera su ingesta permitiendo a los animales de ambos grupos alcanzar una buena CC general. La ausencia de diferencias entre CC y GD, tiende a indicar que no existió restricción de nutrientes para ambos grupos. Falta por definir si el efecto combinado de la suplementación en conjunto con la cantidad y calidad del forraje disponible puede influenciar la actividad reproductiva en novillas. En efecto, Holroyd y col., (1983) demostraron que la suplementación puede ser significativa solamente si el año anterior es pobre en lluvias. En uno de los pocos estudios a largo plazo este grupo encontró que vacas en pastos fertilizados tienen buenas tasas de concepción solo en uno de cinco años de estudio (Holroyd y col., 1977) lo que sugiere que el factor época del año es importante. En un estudio a dos años en donde existió un grupo suplementado, Maquinary col., (1996) encontraron diferencias en el estro, ovulación y proporción de folículos  $>9$  mm y CL en el primer año (mayormente seco); pero para el segundo (con una buena distribución de lluvias) el peso, la longitud del estro y los folículos  $>9$  mm y CL fueron los factores significativamente diferentes entre grupos estudiados. En comparación, nuestro estudio no mostró diferencias significativas respecto a la población folicular a pesar de la mayor proporción de folículos  $\geq 8$  mm y de CL del GS. Es factible que en ambos trabajos el clima y la calidad del pasto o una interacción entre estos y el suplemento (Riquelme, 1987) influenciara los resultados. Por otra parte, la poca respuesta al alimento concentrado pudo deberse a que la suplementación fue corta. En estudios donde ésta tiene una duración de 130 días muestran que su efecto se ve reflejado mayormente sobre la ganancia de peso (GP) y CC mas no sobre la actividad ovárica o porcentaje de hembras en celo (Soto-Camargo y col., 1997a y b).

Al respecto, el peso promedio de las novillas fue de 307 kg comparado con Maquivar y col., (2010) quienes suplementaron novillas de 340 kg por un período similar encontrando diferencias al día 30 sobre la GD. Quizá los animales del presente estudio por estar creciendo demandan de una alta movilización de las reservas grasas. Adicionalmente, si los animales testigo no pierden peso de manera significativa los posibles efectos del suplemento no son obvios. Con respecto de la tasa de preñez Khireddine y col., (1998) usaron dietas energéticas demostrando que la tasa de gestación final se beneficia con esta práctica. En nuestro estudio, el diagnóstico temprano de preñez por US fue en dos momentos a partir de la entrada de los toros; al día 33 y al día 45, existiendo mayor proporción en el segundo caso siendo superior en el GS (50 vs 33%) pero sin significancia proporcional. Sin embargo, la regresión logística demostró una alta correlación entre los momentos de detección de gestación acentuada en el día 45. Quizá la diferencia radica en que en el segundo período, los animales ya habían ganado más peso y por ende tenían mayor probabilidad de quedar gestantes, favoreciendo aún más a aquellas suplementadas y por tanto crece la posibilidad de que esta práctica influenciará el resultado de manera indirecta. Queda de manifiesto que bajo condiciones de este trabajo no fue posible demostrar influencia evidente del alimento concentrado sobre los parámetros evaluados. Por lo tanto se puede concluir que existe un efecto de asociación entre el suplemento y la calidad del forraje, la estrategia de alimentación y el clima (Holroyd y col., 1983; Aranda y col., 2001). Estas interacciones son de consideración y ameritan más investigación. A pesar de ello, suplementar a corto plazo ha demostrado mejorar algunos parámetros productivos y reproductivos como lo demuestran investigaciones previas. Sin embargo, hace falta evaluar el impacto económico y ventajas de la implementación de concentrados en novillas en el trópico por periodos más largos de tiempo a fin de determinar con mayor certidumbre la influencia del medio ambiente sobre la calidad de las pasturas y con ello evaluar la factibilidad de implementar programas de suplementación.

## 5. Agradecimientos

Los autores agradecen las gestiones de la Secretaria de Relaciones Exteriores de México a través del Programa de Cooperación Técnica y Científica México-Costa Rica 2008-2010 para que el estudio se llevara a cabo. Así como también al Programa de Estudios de Posgrado de la UNAM y al CONACyT por la beca otorgada al primer autor. Finalmente, se agradece a la UNA de Costa Rica y al ITCR las facilidades prestadas en la fase de campo.

## 6. Referencia

1. Alonso-Díaz MA, Castillo-Gallegos E, Basurto-Camberos H, Jarillo-Rodríguez J, Valles-de la Mora B. 2007. Respuesta productiva de una pastura de gramas nativas bajo pastoreo rotacional intensivo en clima cálido húmedo. *RevAvanInv Agrop.* 11: 35-55.
2. Aranda, I.E., Mendoza, G.D., García-Bojalil, C., Castrejón, F.P. 2001. Growth of heifers grazing stargrass complemented with sugar cane, urea and a protein supplement. *Livest. Prod. Sci.* 71: 201–206.
3. Cabrera, E.J.I.; Mendoza, M.G.D.; Aranda, I.E.; García-Bojalil, C.; Bárcena, G.R.; Ramos, J.A. 2000. *Saccharomyces cerevisiae* and nitrogenous supplementation in growing steers grazing tropical pastures. *Anim. FeedSci. Technol.* 83: 49-55.
4. Cavalieri, J., Fitzpatrick, L.A. 1995. Artificial insemination of Bosindicus heifers: the effects of body weight, condition score, ovarian cyclic status, and insemination regimen on pregnancy rate. *Aust. Vet. J.* 72: 441–447.
5. Córdova D.F. 1996. Tesis de Maestría. Efecto de la suplementación nitrogenada y un cultivo de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en la digestibilidad y consumo de pasto insurgente (*Brachiariabrizantha*) en toretes. Montecillo, Edo. de México, Programa de Ganadería, Colegio de Postgraduados.
6. Dawson-Saunders B., Trapp G.R. 1997. *Bioestadística médica*. 2da Edición Ed. Manual Moderno. México D.F.
7. Edmonson A.J., Lean I.J., Weaver L.D., Farver T., Webster G. A. 1989. Body condition score chart for Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 72: 68–78.
8. Galina C.S., G.H. Arthur. 1989. Review of cattle reproduction in the tropics. 2. Parturition and calving intervals. *Anim. Breed. Abstr.* 57: 679-686.



9. Gutiérrez C., Galina C.S., Zarco L., Rubio I. 1994. Patterns of follicular growth during prepuberalanoestrus and transition from anoestrus to oestrus cycles in *Bos indicus* heifers. *Adv. Agri. Res.* 3: 1-11.
10. Holroyd R.G., Allan P.J., O'Rourke P.K. 1977. Effect of pasture type and supplementary feeding on the reproductive performance of cattle in the dry tropics of north Queensland. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry.* 17: 197-206.
11. Holroyd R.G., O'Rourke P.K., Clarke M.R., Loxton I.D. 1983. Influence of pasture type and supplement on fertility and live weight of cows, and progeny growth rate in the dry tropics of northern Queensland. *Aust. J. Exp. Agric.* 23: 4-13.
12. Khireddine B., Grimard B., Ponter A.A., Ponsart C., Boudjenah H., Mialot J.P., Sauvart D., Humblot P. 1998. Influence of flushing on LH secretion, follicular growth and the response to estrus synchronization treatment in suckled beef cows. *Theriogenology.* 49: 1409-1423.
13. Kuehl O.R. 2001. *Diseño de experimentos.* 2da. Edición México: Ed. Thompson Learning.
14. Lamming GE and Mann GE. 1995. A dual role for progesterone in the control of cyclicity in ruminants. *J. Reprod. Fertil. Suppl* 49: 561-566.
15. Maquivar M., Galina C.S., Galindo J., Estrada S., Molina R., Mendoza G.D. 2010. Effect of protein supplementation on reproductive and productive performance in *Bos indicus* x *Bos taurus* heifers raised in the humid tropics of Costa Rica. *Trop. Anim. Health. Prod.* 42: 555-560.
16. Maquivar M., Galina C.S., Verduzco A., Galindo J., Molina R., Estrada S., Mendoza M.G. 2006. Reproductive response in supplemented heifers in the humid tropics of Costa Rica. *Anim. Reprod. Sci.* 93: 16-23.
17. Mendoza M.G.D., Ricalde V.R. 1996. *Suplementación de bovinos en crecimiento en pastoreo.* Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, México D.F.
18. Minson DJ. 1971. The nutritive value of tropical pastures. *J AustInstAgric Sci.* 37: 255-263.
19. Peiris, H., Elliott, R., Hales, H., Norton, B.W. 1995. Alternative management strategies for maximizing productivity un beef cattle in the subtropics. *Australian J. Experim. Agricul.* 35: 317-324 ()
20. Pulido A., Zarco L., Galina C.S., Murcia C., Flores G., Posadas E. 1991. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: Effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. *Theriogenology.* 35: 965-975.
21. Randel R D. 1990. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *J AnimSci* 68: 853-862.
22. Riquelme V.E. 1987. *Suplementación energética para bovinos en pastoreo.* En: *Memoria del Seminario Internacional de Suplementación para Bovinos en Pastoreo.* González S.M. (Ed.). Centro de Ganadería Colegio de Posgraduados.
23. Rosiles V.A., Galina C.S., Maquivar M., Molina R., Estrada S. 2005. Ultrasonographic screening of embryo development in cattle (*Bos indicus*) between days 20 and 40 of pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.* 90: 31-37.
24. Schröder U.J., Staufenbiel R. 2006. Invited Review: Methods to determine body fat reserves in the dairy cow with special regard to ultrasonographic measurement of back fat thickness. *J. DairySci.* 89: 1-14.
25. Seibert B.D., Playne M.J., Edey L.A. 1976. The effects of climate and nutrient supplementation on the fertility of heifers in North Queensland. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production* 11: 249-252.
26. Sirois J., Fortune J.E. 1988. Ovarian follicular dynamics during the estrus cycle in heifers monitored by real time ultrasonography. *Biology of Reproduction.* 39: 308-317.
27. Soto-Camargo R., Galina C.S., Rubio I., Castillo E., Basurto H. 1997a. Efecto de la suplementación alimenticia sobre el desempeño productivo y reproductivo en vaquillas Brahman a pastoreo en el trópico húmedo de México. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 5: 51-64.
28. Soto-Camargo R., Galina C.S., Rubio I., Castillo E., Basurto H. 1997b. Efecto de la suplementación alimenticia, condición corporal y sincronización del estrus sobre la actividad de monta de vaquillas Brahman a pastoreo en el trópico húmedo de México. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 5: 65-78.
29. Soto R., Rubio I., Galina C.S., Castillo E., Rojas S. 2001. Effect of pre- and post-partum feed supplementation on the productive and reproductive performance of grazing primiparous Brahman cows. *Trop. Anim. HealthProd.* 33: 253-264.