



Facultad de Ciencias Agropecuarias (UNC)

Escuela para Graduados

# COMPARACIÓN DE PROTOCOLOS DE IATF CONVENCIONALES CON UN PROTOCOLO CON PROESTRO PROLONGADO EN VACAS DOBLE PROPÓSITO EN LA AMAZONÍA ECUATORIANA

### Juan Carlos López Parra

Tesis

Para obtener el Grado Académico de Magíster en Reproducción Bovina

Universidad Nacional de Córdoba

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela para Graduados

Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC)

Córdoba, 2017





Escuela para Graduados

# COMPARACIÓN DE PROTOCOLOS DE IATF CONVENCIONALES CON UN PROTOCOLO CON PROESTRO PROLONGADO EN VACAS DOBLE PROPÓSITO EN LA AMAZONÍA ECUATORIANA

### Juan Carlos López Parra

# Comisión Asesora de Tesis Director: Med. Vet. Dr. Pablo Roberto Marini Co-director: Med. Vet. M.Sc., Ph.D. Gabriel A. Bó Tribunal Examinador de Tesis Dra. Sc. Blgs. Mariana Caccia Med. Vet. Ph.D. Andrés Tríbulo Med. Vet. MSc., Dr. Santiago S. Callejas Presentación formal académica Córdoba, 2 de Agosto de 2017

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Universidad Nacional de Córdoba

**AGRADECIMIENTOS** 

Agradezco en primer lugar a Dios, por brindarme la vida y el don de la perseverancia y

fortaleza para avanzar cada día y ser mejor.

También dejo en constancia mi más profundo agradecimiento a la Universidad Nacional de

Córdoba - Argentina, al Instituto de Reproducción Animal de Córdoba (IRAC), a todos sus

docentes y colaboradores por la oportunidad que me han brindado para alcanzar mi

formación profesional.

Un agradecimiento infinito a mi Director el Dr. Pablo R. Marini y a mi Co- Director de

Tesis el Dr. Gabriel A. Bó por todo ese apoyo fundamental para logar este objetivo que me

propuse tanto para mi formación académica, personal y de apoyo a los productores

ganaderos de la Amazonia Ecuatoriana.

A todo el equipo de trabajo del Centro Latinoamericano de Estudios de Problemáticas

Lecheras CLEPL – Ecuador y Argentina, por todo el apoyo durante este trabajo y a todos

los que aportaron de una u otra forma para llevar a cabo esta investigación.

A todos mil gracias.....

Juan Carlos López Parra.

### **DEDICATORIA**

Este trabajo va dedicado de manera especial a mis padres Mentor y Roció y a mi madre que siempre me bendice desde el cielo, a mis hermanos y a mi familia por todo el inmenso apoyo durante esta etapa de mi vida, a Magdalena gracias por no dejarme vencer en el difícil camino trascurrido, a mi abuelo Humberto "Papa Beto" y a mis amigos que ya no están, pero siempre me han acompañado en cada memento de esta etapa de mi formación.

"Hijo, después llegara la hora de descansar..." (Patate., 2017).

### **RESUMEN**

En la región Amazónica Ecuatoriana, el principal problema que enfrenta la ganadería además de múltiples factores ambientales (temperaturas elevadas y humedad), fisiológicos y manejo zootécnico, es la detección de celos. El objetivo de esta Tesis fue evaluar la utilización de dos sales de estradiol en programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) y compararlas con un tratamiento con proestro prolongado en vacas doble propósito de la Amazonía Ecuatoriana. El mismo se desarrolló en el Centro de Investigación Posgrado y Conservación Amazónica (CIPCA) de la Universidad Estatal Amazónica que está ubicado en el Cantón Arosemena Tola de la Provincia de Napo (Ecuador). Se utilizaron para el trabajo 301 vacas multíparas Brown Swiss doble propósito con cría al pie con estado corporal  $\geq 2.5$ , y que tuvieran  $\leq 90$  y  $\geq 120$  días de intervalo de días abiertos desde octubre de 2015 a abril de 2016. Las variables utilizadas fueron diámetro del folículo dominante ovulatorio, momento de la ovulación desde la IATF ( $\leq 12$ , entre 12,1 y 24,  $\geq 24$ horas), tamaño de cuerpo lúteo (CL) pos-ovulación, progesterona suero pos-IATF y tasa de preñez. Se realizaron tres tratamientos: **TBE** (n=100): Día 0 se aplicó 2mg de Benzoato de Estradiol (BE) + DIB 0,5g; Día 7 se retiró el dispositivo + la aplicación 500 µg de Cloprostenol (PGF2α); Día 8 se aplicó 1 mg BE; Día 9 (48-54 h) IATF. **TECP** (n=100): Día 0 se aplicó 2 mg BE + DIB 0,5g; Día 7 se retiró dispositivo + PGF2α + 0,5 mg Cipionato de Estradiol (ECP); Día 9 (48-54 h) IATF. **T J- Synch** (n=101): Día 0 e aplicó 2 mg BE + DIB 0,5 g; Día 6 se retiró dispositivo + PGF2α; Día 9 se aplicó 100 μg GnRH (72 h) e IATF. En este trabajo se encontró que el protocolo J-Synch resultó en un folículo de mayor diámetro al momento de la IATF (13,5  $\pm$  0,1 mm) que en los otros dos tratamientos  $(12.4 \pm 0.1 \text{ y } 12.9 \pm 0.1 \text{ mm}, \text{ respectivamente; P} < 0.05) \text{ y tuvieron un CL que alcanzó una}$ media mayor (25,4 ± 0,2 mm de diámetro) a los 7 días posterior a la IATF que los tratamientos ECP y BE  $(24.2 \pm 0.2 \text{ y } 24.5 \pm 0.2 \text{ mm}; P<0.05)$  respectivamente. Además, las concentraciones séricas de progesterona en sangre fueron más altas (11,4 ± 0,3 ng/mL) en los animales del tratamiento J- Synch que en los tratamientos ECP y BE (10,6  $\pm$  0,3 y 9,9  $\pm$ 0,3 ng/mL, respectivamente; P <0,05). Sin embargo, cuando se evaluó la tasa de preñez, el protocolo J-Synch tuvo una preñez (59%) numéricamente mayor que los otros dos tratamientos (53% y 51%, respectivamente), sin que existieran diferencias significativas

(P>0,05). Se concluyó que a pesar que el tamaño del folículo dominante ovulatorio, el CL y las concentraciones de progesterona en la fase luteal fueron mayores en las vacas tratadas con el protocolo J-Synch que en las tratadas con los protocolos convencionales con ECP o BE como inductor de la ovulación, no se encontraron diferencias entre los protocolos utilizados en la tasa de preñez.

**Palabras clave:** Vacas doble propósito, proestro prolongado, J-Synch, Amazonía, sales de estradiol.

### **ABSTRACT**

In the Ecuadorian Amazon region, the main problem which the livestock is facing as well as the multiple environmental factors (high temperatures and humidity), physiological and husbandry, is the detection of estrus which has been one of the difficult problems to resolve. The objective of this Thesis was to evaluate the use of two salts of estradiol in Fixed-Time Artificial Insemination (FTAI) programs with a treatment with prolonged proestrus, in dual purpose cows of the Ecuadorian Amazon. The project was developed at the Postgraduate Research and Conservation Centre and of the Amazonian Biodiversity (CIPCA) of the Amazon State University, in Arosemena Tola canton of Napo province (Ecuador). The study used 301 multiparous dual purpose Brown Swiss cows with calves with a body condition score  $\geq 2.5$ , and with  $\leq 90$  and  $\geq 120$  days post-partum from October 2015 to Abril 2016. The variables used were dominant follicle diameter, time of ovulation from FTAI ( $\leq$  12, between 12,1 and 24 and  $\geq$  24 hours), size of corpus luteum (CL) post–ovulation, serum progesterone concentrations post–FTAI and pregnancy rates to FTAI. Three treatments were carried out: TBE (n =100): Day 0 2 mg Estradiol Benzoate (EB) + DIB 0.5g, Day 7 device removal + 500 μg of Cloprostenol Sodium Salt (PGF2α), Day 8 1 mg EB, Day 9 (48 – 54 h) FTAI. TECP (n= 100): Day 0 2 mg EB + DIB 0.5 g, Day 7 device removal + PGF2 $\alpha$  + 0.5 mg Estradiol Cypionate (ECP), Day 9 (48 – 54 h) FTAI. T J – Synch (n= 101): Day 0 2 mg EB + DIB 0.5 g, day 6 device removal + PGF2α, Day 9 2 ml GnRH (72 h) FTAI. The protocol J – Synch showed significant differences in the diameter of the dominant ovulatory follicle at the time of FTAI (13.5± 0,1 mm) vs EB and ECP (12.4± 0,1 to 12.9± 0,1 mm, repectively; P<0.05). Furthermore, cows in the T J-Synch reached a larger CL diameter and higher serum progesterone concentrations on Day 7 post-ovulation (25.4± 0,2 mm and 11.4± 0,3 ng/ml) mm than those in the EB and ECP treatments  $24.4\pm 0.2$  mm and  $10.6\pm 0.3$  ng/ml;  $24.5\pm 0.2$  mm and  $9.9\pm 0.3$  ng/ml, respectively; P<0.05) Finally, pregnancy rates were numerically but not significantly higher in cows treated with the J-Synch treatment (59.4%) than in those treated with the EB and ECP treatments (53% and 51%, respectively) Although the treatment J – Synch resulted in a bigger dominant ovulatory follicle, and CL and higher progesterone concentrations 7 days after ovulation, there were no differences between the protocols used in pregnancy rates.

**Keywords**: dual purpose, prolonged proestrus, J-Synch, Amazon, salts of estradiol.

# TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
Aspectos determinantes para mejorar los programas de IATF	2
Dinámica folicular en el ciclo estral bovino	3
Sincronización de la emergencia de la onda folicular y ovulación con estrógenos y	
progestágenos	6
Tratamiento Co – Synch + CIDR de 5 días.	9
Tratamiento J – Synch.	11
HIPÓTESIS GENERAL	12
OBJETIVO GENERAL	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
CAPÍTULO 2. <b>MATERIALES Y METODOS</b>	14
LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	14
Animales:	15
Alimentación y sanidad	15
TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	16
TECP: Tratamiento con Cipionato de Estradiol (ECP)	16
TBE: Tratamiento con Benzoato de Estradiol (BE)	16
TJS: Tratamiento con proestro prolongado: J – Synch	17
Ultrasonografía.	19
Detección de celos	20

Inseminación artificial a tiempo fijo - IATF	20
Toma de sangre y análisis de progesterona	20
Diagnóstico de gestación	21
Análisis estadístico	21
CAPÍTULO 3. <b>RESULTADOS</b>	23
Presencia de celo	23
Desarrollo folicular	23
Momento de la ovulación	24
Tamaño del cuerpo lúteo y concentraciones séricas de progesterona en sangre	29
Tasa de preñez	30
CAPÍTULO 4. <b>DISCUSIÓN</b>	32
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES	39
CAPÍTULO 6. <b>BIBLIOGRAFÍA</b>	40
ANEVOS	52

# LISTA DE TABLAS

	I	Pág.
Tabla	1. Condiciones meteorológicas del CIPCA	14
Tabla	2. Presencia de celo en vacas doble propósito sometidas al tratamiento J-Syr tratamiento ECP y tratamiento BE	
Tabla		s al BE 24
Tabla	4. Respuesta de ovulación a las 12 horas de la IATF en vacas doble propó sometidas al tratamiento J-Synch, tratamiento ECP y tratamiento	BE
Tabla	5. Respuesta de ovulación a las 24 horas de la IATF en vacas doble propó sometidas al tratamiento J-Synch, tratamiento ECP y tratamiento BE.	ento
Tabla	6. Respuesta de ovulación posterior a las 24 horas de la IATF en vacas de propósito sometidas al tratamiento J-Synch, tratamiento ECP y tratamiento BE.	ento
Tabla	7. Tamaño CL y concentraciones séricas de progesterona al día 7 pos IA (promedio ± E.E- rango) en vacas doble propósito sometidas al tratamiento J-Syr tratamiento ECP y tratamiento BE	nch,
Tabla	8. Tasa de preñez en vacas doble propósito sometidas al tratamiento J-Syntratamiento ECP y tratamiento BE	
Tabla	9. Comparación de promedios de la tasa de preñez vs las variables en vacas do propósito sometidas al tratamiento J-Synch, tratamiento ECP y tratamiento BE	ento

# LISTA DE FIGURAS

Figura	1. Tratamiento ECP: Día 0, dispositivo intravaginal (DIB de 0,5 g) más 2 mg de BE, día 7 retiro dispositivo, cloprostenol 500 µg y 0,5 mg de ECP, IATF 48 a 54 horas del retiro del dispositivo
Figura	2. Tratamiento BE: Día 0, dispositivo intravaginal más 2 mg de BE, día 7 retiro dispositivo, cloprostenol 500 µg día 8, 1 mg de BE, IATF 48 a 54 horas del retiro del dispositivo.
Figura	3. Tratamiento J – Synch: Día 0, dispositivo intravaginal más 2 mg de BE, día 6, retiro dispositivo y Cloprostenol 500 µg, IATF 72 horas del retiro del dispositivo 100 µg de GNRH
Figura	4. Respuesta de ovulación y tasa de preñez registrados a las 12 horas, 24 y posterior a las 24 horas de realizada la IATF en vacas doble propósito sometidas al tratamiento ECP
Figura	5. Respuesta de ovulación y tasa de preñez registrados a las 12 horas, 24 y posterior a las 24 horas de realizada la IATF en vacas doble propósito sometidas al tratamiento BE
Figura	6. Respuesta de ovulación y tasa de preñez registrados a las 12 horas, 24 y posterior a las 24 horas de realizada la IATF en vacas doble propósito sometidas al tratamiento J - Synch

### LISTA DE ABREVIATURAS

μg Microgramos

ANOVA Análisis de la variancia

BE Benzoato de Estradiol

CC Condición Corporal

CIPCA Centro de Investigación Posgrado y Conservación de la Biodiversidad

Amazónica

CL Cuerpo Lúteo

CV Coeficiente de variación

DF Desarrollo Folicular

DIB Dispositivo intravaginal bovino

ECP Cipionato de Estradiol

eCG Gonadotrofina coriónica equina

EE Error Estándar

FSH Hormona folículo estimulante

GnRH Hormona liberadora de gonadotrofinas

g Gramos

IATF Inseminación artificial a tiempo fijo

IA Inseminación artificial

IM Intramuscular

LH Hormona Luteinizante

MS Materia Seca

MHz Mega Hertz

MO Momento de la Ovulación

mg Miligramos

mm Milímetros

msnm Metros sobre el nivel del mar

ng Nanogramos

PGF Prostaglandina

RIA Radio inmunoensayo

TCL Tamaño de cuerpo lúteo

UI Unidades Internacionales

UTM Sistema de coordenadas universal transversal de Mercator

T Tratamiento

T J - Synch Tratamiento J - Synch

TBE Tratamiento Benzoato de Estradiol

TECP Tratamiento Cipionato de Estradiol.

# **CAPÍTULO 1**

# INTRODUCCIÓN

En el Ecuador y particularmente en la región Amazónica los ganaderos tienen la necesidad de corregir y mejorar la eficiencia de los animales utilizados para producir leche y carne, ya que existe una ineficiencia en los parámetros reproductivos que son generados por múltiples factores, entre ellos: ambientales (temperaturas elevadas y humedad), fisiológicos y por el manejo zootécnico (Moyano *et al.*, 2015). Dentro de los factores de manejo, hay una muy baja detección de celos, que es muy particular de la zona en estudio, por las distancias que los animales se encuentran, sin vías de acceso y por la topografía irregular de la Amazonía (Ortiz *et al.*, 2015). Siendo uno de los principales motivos por los cuales la rentabilidad es baja, al no poder obtener las vacas un parto al año en las explotaciones bovinas. Por lo tanto, se hace cada vez más inevitable el uso de métodos alternativos para la estimulación y control fisiológico reproductivo en el ganado bovino.

La Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) en ganado bovino ha permitido el uso de toros genéticamente superiores para maximizar la calidad de los terneros/as producidos. Sin embargo, la implementación de esta técnica reproductiva dificulta su aplicación en hembras bovinas que están criando su ternero/as al pie durante varios meses de lactancia (Quinteros *et al.*, 2016). El problema o dificultad que se genera hace referencia marcada a la detección de celos, limitándose a menudo a una inseminación sistemática, seguida por servicio natural y una deficiencia corporal que se presenta en las vacas que retornan en celo (López *et al.*, 2014).

Una solución inmediata a la disminución de la fertilidad en vacas incluye la utilización de hormonas. Se ha desarrollado una serie de tratamientos hormonales que es capaz de controlar el momento de la primera IA y las inseminaciones posteriores en vacas no preñadas y para el tratamiento de vacas en anestro (Cutaia *et al.*, 2011). Para lograr esto se debe controlar el ciclo estral mediante el uso de técnicas que sean capaces no sólo de sincronizar los celos sino también de inducir la ovulación en vacas en anestro. De esta

forma se facilita la inseminación de vacas que se manejan en forma extensiva, se incrementa la proporción de vientres que conciben temprano en los establecimientos ganaderos con servicio estacionado, se limitan los períodos de estrecha observación y se reducen los movimientos de las vacas, tanto para un rodeo de vacas para carne o para leche (López *et al.*, 2014). Varios estudios demuestran que los productos progestágenos tienen la capacidad de inducir ciclicidad, tanto en vacas en anestro como en vaquillonas cuya madurez sexual no se ha completado (Maquivar y Day, 2011). El período de anestro posparto se encuentra afectado principalmente por el amamantamiento y la nutrición, siendo factores de menor importancia, la involución uterina, época de parición, raza, edad de la madre y las características del parto (Peter *et al.*, 2009). Es por ello que la IA es una de las biotecnologías reproductivas utilizadas para el mejoramiento genético de los hatos bovinos en la Amazonía ecuatoriana (López, 2014).

### Aspectos determinantes para mejorar los programas de IATF

La IA es la técnica o herramienta más importante creada para el mejoramiento genético de animales. Algunos machos altamente seleccionados producen suficientes espermatozoides para inseminar miles de hembras al año mientras que cada hembra seleccionada puede producir relativamente poca progenie, incluso mediante trasferencia de embriones.

Existen algunos parámetros que se requieren para tener buenos resultados en los programas de IATF como son: sistemas ordenados de pastoreo y/o suplementación en distintas épocas del año y una exigente selección de las hembras que van a entrar a servicio. Es importante que el técnico que monitoree los programas conozca el manejo general del establecimiento (aunque no sea él mismo el que lo lleve adelante) para determinar si es posible la implementación de una IATF (Bo *et al.*, 2014). Se describen los puntos a tener en cuenta:

- 1. Determinar con claridad la categoría de animales con los que se va a trabajar (vacas sin ternero al pie o vacas con cría al pie).
- 2. Identificar los animales a utilizar en la IATF.

- 3. Evaluar la condición corporal (CC; Tríbulo et al., 2006).
- 4. Utilizar instalaciones en buenas condiciones para respetar y cumplir los tiempos programados de la IATF
- 5. Contar con personal capacitado para el manejo y monitoreo.
- 6. Utilizar semen bajo las normas establecidas (Saake *et al.*, 1994; Barth *et al.*, 1995a; 1995b).

### Dinámica folicular en el ciclo estral bovino

El crecimiento folicular en el bovino ocurre simulando ondas. Este patrón de ondas se repite en casi todos los estadios de la vida de la hembra bovina, incluyendo el período pre púber (Evans et al., 1994), la preñez (Ginther et al., 1996), y el período postparto (Murphy et al., 1990). Una onda de crecimiento folicular involucra el desarrollo sincrónico de un grupo de folículos individualmente identificables a partir de un diámetro de 4 mm, que ocurre al mismo tiempo en los dos ovarios. Durante aproximadamente dos o tres días todos los folículos crecen, luego uno de ellos es seleccionado, continúa creciendo y se convierte en folículo dominante, mientras que el resto de los folículos, llamados subordinados se vuelven atresicos y regresan (Ginther et al., 1989a). El folículo dominante de la primera onda será anovulatorio, porque se desarrolla durante la fase luteal, el folículo dominante tiene una fase de crecimiento, una estática y otra de regresión. Los folículos subordinados en cada onda incrementan su tamaño, pudiendo el mayor de ellos alcanzar un diámetro de 8 mm, tienen una pequeña fase estática y regresan (Ginther et al., 1989b). Cuando el folículo dominante alcanzó 8,5 mm y el subordinado 7,2 mm, en este momento los niveles de FSH se encuentran por debajo de los niveles necesarios para el desarrollo de los folículos subordinados que se atresian mientras que el folículo dominante adquiere la habilidad de seguir creciendo con bajos niveles de FSH (Sartori et al., 2004). Para el establecimiento de esta dominancia se requiere que se presente divergencia o desviación, que corresponde al tiempo en el cual el folículo dominante y el (los) subordinado(s) más desarrollado(s) crecen a una tasa diferente, antes que el subordinado muestre atresia (Bastos *et al.*, 2010). Durante esta etapa llegan al folículo dominante estímulos hormonales que colaboran con el aumento de su irrigación sanguínea. El folículo dominante alcanza un tamaño superior a los demás (mayor a 10 mm de diámetro) y es responsable de la secreción de estradiol. Esta actividad estrogénica está relacionada con el incremento de enzimas aromatasas, receptor de FSH y la adquisición de receptores de LH en las células de la granulosa. Igualmente, esta actividad estrogénica se correlaciona negativamente con las cantidades intrafoliculares de las Proteínas de Unión del Factor de Crecimiento similar a la Insulina (IGFBPS, IGFBP2, IGFPB5 e IGFBP5; Sartori *et al.*, 2001). El IGF-I presente en los folículos de mayor tamaño, y su concentración va aumentando paralelamente con el incremento de la receptividad de las células de la granulosa a IGF-I, lo cual estimula el proceso de aromatización, así como el incremento de los receptores de LH en las células de la granulosa (Murphy *et al.*, 1991).

La primera onda folicular se detecta el día de la ovulación (Día 0). La segunda onda comenzara el día 9 o 10 para los ciclos de 2 ondas y el día 8 o 9 en los ciclos de 3 ondas (Ginther *et al.*, 1996a). En los ciclos de 3 ondas la tercera onda emerge en el día 15 ó 16. Las características del folículo dominante de la primera onda entre el patrón de 2 ondas y el patrón de 3 ondas son similares, pero la segunda onda emerge 1 a 2 días más temprano en los animales con 3 ondas que en los de 2 ondas (Ginther *et al.*, 1996b; Bó *et al.*, 2005). Además, existe una gran variabilidad individual en cuanto al día de emergencia de la segunda onda que puede comenzar entre los días 6 a 12 (Adams y Pierson, 1995; Evans *et al.*, 1994).

La capacidad para ovular de un folículo dominante que sea (>10 mm) se logra después que este supera el diámetro de desviación (>8,5 mm) como fue reportado en un experimento utilizando vacas lecheras (Sartori *et al.*, 2001). La ovulación de folículos de menor tamaño produjo menor fertilidad debido al desarrollo de un CL pequeño que generó bajas concentraciones séricas de progesterona en circulación en la fase luteal subsiguiente (Vasconcelos *et al.*, 2001; Busch *et al.*, 2008). Esto se observó durante el desarrollo temprano del CL, luego que se alcanzó la maduración del CL después del Día 8 del ciclo estral, su tamaño no influyó en las concentraciones circulantes de progesterona

(Mann, 2009). Durante mucho tiempo, se consideró al tamaño folicular como el principal indicador de madurez folicular al momento de sincronizar la ovulación en programas de IA (Evans *et al.*, 1994).

Perry et al., (2005), encontraron menores tasas de preñez cuando se indujo a ovular con GnRH vacas de carne posparto con folículos menores a 11 mm, y a su vez incrementaron las mortalidades embrionarias/fetales. Esto se asoció con menores concentraciones séricas de estradiol preovulatorio y una consecuente menor concentración sérica de progesterona después de la IA, aunque estos efectos no fueron evidentes en folículos pequeños que ovularon espontáneamente. En vaquillonas de carne se encontró un máximo de probabilidad de preñez cuando el tamaño folicular en el momento de la IA fue de 12,8 mm, mientras que al encontrar folículos dominantes por debajo de 10,7 mm o por encima de 15,7 mm tuvieron menos chances de lograr una preñez (Perry et al., 2007). En vaquillonas que fueron inducidas a ovular folículos inmaduros se redujo el diámetro folicular ovulatorio, la función luteal y la tasa de concepción a la IA (Mussard et al., 2007). Además, se demostró que, a un diámetro folicular constante, la duración del proestro tuvo una influencia sustancial sobre la tasa de concepción y estuvo positivamente relacionado con la maduración folicular y fertilidad (Day et al., 2010).

Atkins *et al.* (2013) observaron que en vacas receptoras de embriones en el día 7 del ciclo estral, la fertilidad se correlacionó con el diámetro folicular ovulatorio, la producción de estradiol preovulatorio y la subsecuente producción de progesterona (independientemente del tamaño del folículo de la donante) luego de una recuperación y transferencia de un único embrión. Por esto, se puede concluir que el diámetro folicular como único indicador de madurez folicular resulta inconsistente y otros factores como las concentraciones séricas de estradiol y progesterona y duración de proestro, también deberían tenerse en cuenta, sobre todo en tratamientos a base de GnRH que son menos eficientes que el estradiol para sincronizar nuevas ondas foliculares.

# Sincronización de la emergencia de la onda folicular y ovulación con estrógenos y progestágenos

En los últimos años se ha avanzado en el desarrollo de tratamientos para IATF en rodeos bovinos para leche y para carne (Colazo et al., 2009; Bó et al., 2013) y doble propósito, basados en la utilización de distintas sales de estradiol y progestágenos (Bó et al., 2002). En Argentina, estos son los protocolos elegidos por técnicos y médicos veterinarios con los que se alcanzan tasas efectivas de preñez de alrededor del 50 % (Cutaia et al., 2003). En este sentido, la IATF y los nuevos protocolos de sincronización de la ovulación, resultan en una opción interesante para aumentar la performance reproductiva sin la necesidad de la detección de celos (Bó et al., 2002). Existen actualmente en el mercado dispositivos eficientes que liberan progesterona y que son mantenidos en la vagina por un período de 7 u 8 días (Bó et al., 2001a). El tratamiento que se utiliza consiste en administrar 2 mg de BE por vía intramuscular (im) junto con la inserción del dispositivo intravaginal con liberación de progesterona en lo que se denomina el Día 0 del tratamiento. En el día 7 u 8 se extrae el dispositivo y se aplica una dosis luteolítica de prostaglandina (PGF) y 1 mg de BE (im) 24 horas más tarde (Bó et al., 2001b; 2002c) o 0,5 mg de ECP en el mismo momento de la remoción del dispositivo (Colazo et al., 2003). El tratamiento con ECP en el momento del retiro del dispositivo con progesterona es hoy el más utilizado para reducir el número de veces que los animales pasan por la manga (Bó et al., 2014; Giacusa et al., 2005). El ECP es una sal de estradiol con mayor vida media que el BE y se adapta a un esquema de aplicación de estradiol como inductor de la ovulación en el momento de retirar el dispositivo con progesterona (Feliciangeli et al., 2007). Se puede realizar la IATF entre las 48 y 56 horas de la remoción del dispositivo (Menchaca et al., 2013).

La función principal de colocar estrógenos en el inicio del protocolo es provocar la atresia de los folículos existentes e inhibir la formación de folículos persistentes que interfieren negativamente en la fertilidad (Bó *et al.*, 1995; 2002a; 2002b, Martínez *et al.*, 2000). Luego de la atresia, se inicia el comienzo de una nueva onda folicular a los cuatro días (Moreno *et al.*, 2001) de esta manera obtenemos un nuevo folículo y un ovocito viable en el momento de retirar el dispositivo de progesterona (Bó *et al.*, 2002d). Según

datos de experimentos realizados con exámenes frecuentes con ultrasonografía, las vacas evaluadas con el tratamiento convencional con dispositivo con progesterona por 7 días y BE ovulan en promedio a las 66 horas de retirado el implante (Cutaia *et al.*, 2001; Cesaroni *et al.*, 2007). Se debe tomar en cuenta que los espermatozoides tardan entre 8 a 12 horas en llegar al sitio de fertilización (Wilmut y Moller, 1984). Se han realizado una serie de experimentos en Uruguay sobre 8.712 animales (Menchaca *et al.*, 2013), con el objetivo de determinar el mejor horario de IATF (48 vs 54 h) en vaquillonas *Bos taurus* tratadas con BE, progesterona, eCG y ECP. No se logró encontrar diferencias entre ambos momentos de inseminación por lo que se puede inseminar las vaquillonas tanto a la mañana como por la tarde sin afectar la tasa de preñez.

Las vaquillonas que demostraron cuerpos lúteos (CL) al iniciar el tratamiento se preñaron alrededor de 7 puntos porcentuales por encima de las que no presentaban un CL (P<0,05) y en todos los casos la tasa de preñez logró ser superior al 50%. En otro experimento de Menchaca et al. (2006) utilizando vaquillonas en anestro se combinaron BE y dispositivos con progesterona por 7 días y 300 UI de eCG al retiro y un análogo de GnRH a las 48 horas, para ser inseminadas a tiempo fijo entre 52 y 56 horas. La combinación de GnRH y eCG luego del tratamiento con progesterona demostraron tasas de preñez superiores al compararse con 1 mg de BE como inductor de ovulación y eCG (P<0,05) siendo este programa por varios años con el que han trabajado en Uruguay para vaquillonas. Otros trabajos que se han realizado en Argentina no encontraron una tasa de preñez superior en vaquillonas tratadas con BE o GnRH como inductores de la ovulación (Bó et al., 2005). Años más tarde cuando a este protocolo con GnRH a las 48 horas se lo comparó con 0,5 mg de ECP al retiro del dispositivo no se encontraron diferencias significativas (Menchaca et al., 2013). El protocolo con ECP es más sencillo de aplicar y reduce un día de encierro de los animales utilizados para la IATF, disminuyendo el grado de estrés de los mismos (López et al., 2014), sustituyendo así al protocolo con GnRH. Por otra parte, en Argentina se comparó el protocolo utilizando BE y ECP como inductor de la ovulación y si bien en algunos trabajos no se encontraron diferencias significativas (Bó et al., 2005) en otros trabajos el uso con ECP resultó en menores tasas de preñez que con el

uso de BE (Uslenghi *et al.*, 2014) pero la utilización del ECP es mayor en los países de la región por su facilidad (Bó *et al.*, 2013).

En países en los que está disponible el uso de estradiol (17-β estradiol o BE) y progestágenos (dispositivos intravaginales o implantes auriculares) estas son las principales hormonas que se utilizan para manipular el ciclo estral tanto en programas de IATF (Bó *et al.*, 2013), programas de embriones como sincronización de receptoras de embriones a tiempo fijo (Bó *et al.*, 2012), y donantes de embriones en protocolos de superovulación (Baruselli *et al.*, 2011), tanto en *Bos indicus* como en *Bos taurus*.

En todos los programas lo que más se busca es un desarrollo folicular eficiente para lo cual se han probado varias estrategias y productos para lograr un mejor desarrollo folicular y un tamaño de CL considerable. La estimulación y sincronización del crecimiento folicular conjuntamente con la ovulación de folículos de mayor diámetro y formación de CL saludables podría ser una buena alternativa para reducir las pérdidas durante la gestación temprana. Por otra parte, la actividad del CL podría estar influenciada por las características del folículo ovulatorio durante su desarrollo previo (Vasconcelos *et al.*, 2001; Crowe, 2008). Por este motivo, es de interés el diseño de tratamientos de sincronización de la ovulación que aseguren un buen control de la dinámica folicular, en este sentido, la administración de Gonadotrofina Coriónica Equina (eCG) a los tratamientos actuales para IATF favorece el desarrollo folicular final previo a la ovulación y obtener así una mejor actividad luteal (Bó *et al.*, 2013). Por otra parte, esta hormona puede ser utilizada de nuevo, previo al período crítico como un soporte luteal adicional (Pérez Wallace, 2013; Cutaia *et al.*, 2010; Núñez-Olivera *et al.*, 2014).

En vacas de razas índicas este efecto estuvo asociado al aumento del tamaño del CL, incrementando las concentraciones plasmáticas de progesterona luego de la ovulación y mejorando así el desarrollo embrionario y el mantenimiento de la gestación (Baruselli *et al.*, 2004). Por otro lado, se ha reportado que varios genes relacionados al desarrollo del CL han sido identificados como objetivos directos de la prolactina (Stocco, 2012).

Como se describió anteriormente la eCG muestra tanto actividad FSH como LH, y en mamíferos ambas hormonas son necesarias para la maduración del folículo

preovulatorio (Murphy, 2012). Muchos estudios han demostrado que la administración de eCG al tratamiento de sincronización con progesterona aumenta la frecuencia de ovulaciones múltiples y luego resulta en una elevada concentración de progesterona circulante, pero en algunos estudios este aumento en la concentración de progesterona no se correlaciona con el aumento en la tasa de preñez (Nogueira *et al.*, 2004); sin embargo, en numerosos trabajos que hay publicados en la literatura la eCG aumenta las tasas de preñez (en animales en anestro) y la concentración sérica de progesterona 7 días después (Bo *et al.*, 2013; Baruselli *et al.*, 2012).

### Tratamiento Co – Synch + CIDR de 5 días

El protocolo Co –Synch + CIDR de 5 días se diseñó con la finalidad de completar los estudios básicos que identifica los factores fisiológicos y endocrinos que inciden en la tasa de preñez en el ganado bovino. Varios estudios realizados principalmente en Norte América, han demostrado que el protocolo Co-Synch de 5 días, con proestro de 60 y 72 horas (intervalo entre el retiro del CIDR y la PGF hasta la administración de GnRH y IATF), mejora la tasa de preñez obteniendo resultados cercanos al 50%, en comparación a las tasas de preñez a la IATF con el protocolo convencional Co-Synch de 7 días con IATF 60 horas después del retiro del CIDR. Esta mejora en las tasas de preñez a la IATF se produjo en todas las clasificaciones de vacas para carne en lactación; anestro, ciclando, primíparas y multíparas (Bridges *et al.*, 2008).

Este protocolo Co–Synch + CIDR de 5 días ha demostrado ser más eficaz en vacas de carne posparto que el de 7 días y dada la posibilidad de administrar 2 dosis de PGF al mismo tiempo, es igual conveniente en términos de manejo de ganado, y facilita la IATF en vacas lecheras lactantes (Santos *et al.*, 2010; Bisinotto *et al.*, 2010; Ribeiro *et al.*, 2012). Bridges *et al.* (2012b) compararon un protocolo Co-Synch de 7 días con un dispositivo de progesterona con IATF a las 60 horas y un protocolo Co-Synch de 5 días con IATF a las 72 horas en vacas de razas para carne en el cual la tasa de preñez fue 10,5 puntos porcentuales superiores en las tratadas con Co-Synch de 5 días. En otro experimento con vaquillonas de raza para carne de 15 meses también demostró buenos

resultados el tratamiento Co-Synch 5 días con IATF a las 72 horas cuando se comparó con un protocolo Co-Synch de 7 días utilizando un dispositivo de progesterona con IATF a las 60 horas alcanzando buenos porcentajes en las tasas de preñez por encima de 60%, logrando buena ciclicidad en los animales inseminados (Perry *et al.*, 2012). En otros estudios recientes reportaron en vacas cruza Angus sincronizadas con el protocolo Co-Synch 5 días, tuvieron mayor porcentaje de preñez que aquellas que recibieron un protocolo Co-Synch de 7 días (58,1% vs 55,1 %; P> 0,05; Whittier *et al.*, 2013).

En todos los experimentos iniciales, se administraron dos dosis PGF, la primera al retirar el CIDR y la segunda 12 horas más tarde. Se usó este enfoque debido al intervalo relativamente corto entre GnRH y PGF en el tratamiento de 5 días, ya que era dudoso que el CL accesorio regresara en todas las vacas con una sola inyección de PGF en este tratamiento. En un estudio de Rabaglino et al. (2010), no encontraron diferencias en la regresión del CL en vaquillonas lecheras que ovularon a la primera dosis de GnRH en el momento de la IATF al aplicar 1 vs. 2 dosis de PGF en el día 5. En otros experimentos que realizaron Colazo y Ambrose (2011) observaron que la primera dosis de GnRH no fue necesaria para lograr tasas de preñez aceptables en vaquillonas para leche. Bridges et al. (2012a), evaluaron en vacas para carne la necesidad de administrar 1 o 2 dosis de PGF en el día 5, obteniendo la misma eficiencia con 2 dosis de PGF (25 mg por dosis de Dinoprost) administradas conjuntamente en dos puntos de inoculación im, o dos dosis separadas con un intervalo de 8 horas (50 mg de Dinoprost). En vaquillonas para carne algunos reportes indicaron que se obtuvieron mayores tasas de preñez al aplicar dos dosis de PGF (Peterson et al., 2011). En otros experimentos se obtuvieron similares resultados, independientemente de haber recibido o no la primera dosis de GnRH tanto en vaquillonas para carne como para leche (Kasimanickam et al., 2014).

En algunos experimentos en vaquillonas para carne de 15 meses las cuales fueron sometidas con el protocolo Co-Synch de 5 días, la omisión de la primera GnRH (en el día 0) no produjo una disminución en la tasa de preñez a la IATF, y con una sola dosis de PGF al retiro del dispositivo resulto efectiva para inducir la luteólisis a pesar de haber recibido o no la dosis inicial de GnRH (Cruppe *et al.*, 2014).

En lo referente a los horarios de inseminación se han comparado los resultados de preñez a la IATF en vaquillonas para carne sincronizadas con tratamientos Co-Synch de 5 días, para lo cual se utilizaron un total de 1098 vaquillonas cruza Angus donde compararon la IATF a las 56 horas vs, la IATF a las 72 horas desde el retiro de los dispositivos en el día 5. Las vaquillonas inseminadas a las 56 horas tuvieron en promedio de 10,3 puntos porcentuales más de tasa de preñez a la IATF que las vaquillonas inseminadas a las 72 horas (Kasimanickam *et al.*, 2012).

En otros estudios se ha podido observar que con este intervalo de proestro prolongado en el protocolo de 5 días, las tasas de preñez a la IATF mejoraron en 13,3 y 9,1 puntos porcentuales (Bridges *et al.*, 2013; Geary *et al.*, 2013 respectivamente) en comparación con las tasas de preñez a la IATF con el protocolo de 7 días con IATF 60 horas después del retiro del CIDR.

### Tratamiento J – Synch.

Un protocolo a base de estradiol (llamado J – Synch) ha sido desarrollado recientemente con el objetivo de proporcionar un proestro más largo, mejorando el desarrollo del folículo dominante antes de la ovulación, y aumentando la tasa de preñez después de la IATF en vaquillonas (de la Mata *et al.*, 2012). Aproximadamente desde el 2011 han venido trabajando en varios experimentos con el objetivo de desarrollar nuevos tratamientos usando BE y progesterona para lograr sincronizar el inicio de una nueva onda folicular con un período reducido de inserción de dispositivo con progesterona de 6 días en lugar de 7 u 8 días, aplicando una GnRH como inductor de ovulación a las 72 horas después de la remoción del dispositivo junto con la IATF tratando de obtener un proestro prolongado. Este tratamiento se denominó J – Synch, con el cual se logró un pro estro con promedio de 95 y 97 horas, lo que hace suponer que mejoraría las tasas de gestación. (de la Mata *et al.*, 2015). De la misma forma se demostró que la calidad embrionaria puede verse afectada cuando la dominancia de un folículo ovulatorio aumenta más de 1,5 días (Cerri *et al.*, 2009). También obtener un proestro prolongado se

correlaciona con mayores concentraciones séricas de estradiol, lo que ha mejorado la fertilidad en la IATF (Bridges *et al.*, 2008; 2010).

Al comparar el protocolo J-Synch con el Co-Synch de 5 días en vaquillonas para carne (de la Mata y Bó, 2012), los tratamientos no difirieron (P>0,1) en la tasa ovulatoria (91,6% vs. 92,8%), hora media de ovulación (97,1±17,4 horas vs. 95,1± 12,5 horas), diámetro de folículo ovulatorio (11,7± 0,2 vs 12,0± 0,5 mm), tampoco en el porcentaje de concepción (50% vs. 57%). En otros experimentos lograron resultados similares en vaquillonas Holstein (Ré *et al.*, 2014). En trabajos de transferencia de embriones este protocolo demostró alcanzar buenas tasas de preñez en receptoras de embriones sincronizadas y transferidas en el día 7, con una tasa de preñez mayor del 55% (de la Mata *et al.*, 2013a) y superiores a los obtenidos con el tratamiento convencional usando dispositivos con progesterona y ECP (Menchaca *et al.*, 2015). Estos estudios previos con este nuevo tratamiento dieron origen a los experimentos realizados en la presente tesis.

El uso de la inseminación artificial junto con la sincronización de celos, se considera una alternativa para potencializar la mejora en la reproducción, por eso analizar el uso de protocolos utilizando sales de estradiol como son el Benzoato o el Cipionato y comparar la tasa de concepción en una IATF con otros tratamientos como es el J – Synch es justificable evaluar en vacas doble propósito y en condiciones de la Amazonía Ecuatoriana.

# HIPÓTESIS GENERAL

Los protocolos que prolongan el proestro aumentan la tasa de preñez con respecto a los protocolos convencionales que generan un proestro de menor duración.

### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar los resultados de la utilización de dos sales de estradiol en programas de IATF y compararlas con un tratamiento con proestro prolongado en vacas doble propósito de la Amazonía Ecuatoriana.

# **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar el porcentaje de expresión de celo en los protocolos convencionales y en el tratamiento con proestro prolongado.

Analizar el desarrollo folicular en el proestro de los protocolos convencionales y en los de proestros prolongados mediante ultrasonografía.

Determinar el momento de la ovulación posterior a la IATF en los tres tratamientos evaluados.

Medir el tamaño del CL pos- inseminación mediante ultrasonografía y determinar la calidad del CL a través de concentraciones de progesterona en sangre.

Analizar la tasa de preñez de los protocolos convencionales vs. el tratamiento con proestro prolongado en vacas doble propósito en la Amazonía Ecuatoriana.

# **CAPÍTULO 2**

## MATERIALES Y MÉTODOS

### LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se desarrolló en el Centro de Investigación Posgrado y Conservación Amazónica (CIPCA) de la Universidad Estatal Amazónica del Ecuador, en la Provincia de Napo, que se encuentra ubicado al Nor Oriente del País. Dicho centro está ubicado en el cantón Arosemena Tola de la provincia de Napo (Ecuador), en el kilómetro 44 vía Puyo-Tena (coordenadas: S 01° 14.325′; W077° 53.134′) y dispone de una superficie de 42 ha de pastos destinada a la lechería. El ambiente es tropical con precipitaciones de 4000 mm/año, una humedad relativa promedio del 80% y temperaturas que varían entre los 25 y los 30 °C. Su topografía se caracteriza por relieves ligeramente ondulados sin pendientes pronunciadas, distribuidos en mesetas naturales de gran extensión. La altitud varía entre los 580 y 990 msnm. Si bien los suelos presentan una composición muy heterogénea, la mayoría se origina en sedimentos fluviales procedentes de la región andina del país. Además, se trabajó en establecimientos lecheros tambos aledaños en los cantones: Archidona, Tena y Arosemena Tola, los cuales cuentan con unas condiciones meteorológicas muy similares.

Tabla 1. Condiciones meteorológicas del CIPCA.

VALOR
25°C
Trópico - Húmedo
90-100%
4000-5000
190833
9885105
220 - 450

Fuente: Estación Meteorológica de Recursos Naturales. NAPO. (2015).

La investigación tuvo una duración de 12 meses durante los cuales se evaluó la eficacia de los tres protocolos, en vacas Pardo Suizo mestizas.

### **Animales**

Para el desarrollo de la siguiente investigación se emplearon 301 vacas Pardo Suizo mestizas, primíparas y multíparas. Adicionalmente se evaluó la condición corporal (CC) dentro de la escala de (1 a 5; Ben *et al.*, 2002). Las hembras en estudio presentaron un promedio de 2,4±0,34 de CC. Fueron seleccionadas también por la presencia de un CL o folículo > 10 mm de diámetro en sus ovarios por medio de palpación y ultrasonografía y también se evaluó el grado de desarrollo del tracto genital. Las vacas utilizadas en el estudio tuvieron un promedio 112 ± 1,00 días de posparto. Los datos reproductivos provienen de los controles periódicos efectuados por el asesor veterinario responsable del Centro de Investigación (CIPCA). Todas las vacas se manejaron en la misma instalación de ordeño. Las vacas se inseminaron siempre con semen de toros probados.

### Alimentación y sanidad

La alimentación de los bovinos en estudio, fue de pastoreo libre, con pastizales en base de *Brachiaria decumbens*, (17.585 kg MS/ha/año), *Brachiaria brizantha* (26.970 kg MS/ha/año), *Arachis pintoi* (6.212 kg MS/ha/año), *Desmodium ovalifolium* (5.890 kg MS/ha/año) y *Stylosanthes guianensis* (15.237 kg MS/ha/año). Se aplicó el manejo sanitario habitualmente empleado para el rodeo bovino del CIPCA. El mismo incluye desparasitaciones, baños contra garrapatas y moscas, vacunaciones para fiebre aftosa, rabia bovina y estomatitis vesicular y la aplicación inyectable de vitaminas y minerales.

### TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Se estudió el efecto de tres protocolos de IATF consistentes en la utilización de dispositivos hormonales, en vacas doble propósito, a fin de evaluar algunas características relacionadas con la tasa de concepción.

Se distribuyó a los animales aleatoriamente en dos grupos de 100 y uno de 101 vacas, correspondientes a los tres tratamientos en las cuales se realizaron cuatro repeticiones en grupos de 25 con cada uno de los tratamientos.

### Tratamiento convencional con sales de estradiol

### **TECP: Tratamiento ECP**

El Día 0 se realizó la primera evaluación mediante ultrasonografía para analizar el estatus ovárico y se procedió a la aplicación de un dispositivo intravaginal impregnado de progesterona (DIB de 0,5 g, Zoetis) y se les administró 2 mg de BE (BE, Gonadiol, Zoetis) IM profunda. Se retiró el dispositivo intravaginal al Día 7 acompañado de PGF, 500 μg de Cloprostenol, (Ciclase DL, Zoetis) IM más la aplicación de 0,5 mg de ECP (Cipiocyn, Zoetis) IM y se pintaron las bases de las colas con un marcador de pintura (Markings tick, Divasa- Farmavic, España) como método de ayuda para la detección visual de celos. En el Día 9 (48-54 horas de la aplicación de PGF) las vacas fueron IATF como se indica en la Figura 1.

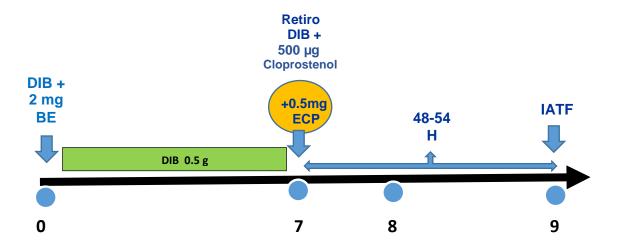
### **TBE: Tratamiento BE**

El Día 0 se realizó la primera evaluación mediante ultrasonografía para analizar los ovarios y se procedió a la aplicación de un DIB de 0,5 g, más 2 mg de BE IM. Se retiró el dispositivo intravaginal al Día 7 acompañado de PGF, al Día 8 se aplicó 1 mg BE (IM) y se pintaron las bases de las colas con un marcador de pintura como en el tratamiento

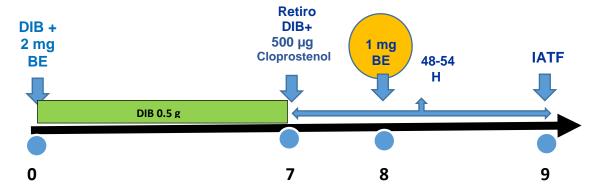
anterior. En el Día 9 (48-54 horas de la aplicación de PGF) las vacas fueron IATF como en la Figura 2.

### TJS: Tratamiento con proestro prolongado: J – Synch.

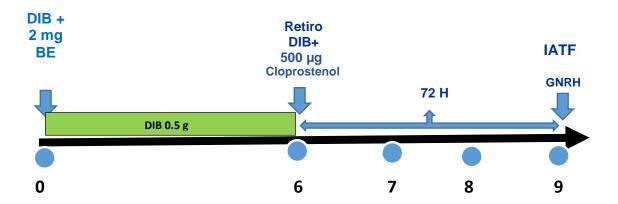
En el día 0 se realizó la primera evaluación mediante ultrasonografía para analizar estatus ovárico y se aplicó 2 mg de BE IM, junto con un dispositivo DIB de 0,5 g. El Día 6 se retiró el dispositivo intravaginal junto con la administración de PGF IM y se aplicó en la base de la cola un marcador de pintura como en los tratamientos anteriores. Al Día 9 se aplicó 100 µg de GnRH (Gonasyn GDR, Gonadorelina Acetato, Zoetis, Argentina) al momento de realizar la IATF la cual se desarrolló a las 72 horas de removido el dispositivo como en la Figura 3.



**Figura 1.** Tratamiento ECP: Día 0 dispositivo intravaginal (DIB de 0,5 g, Zoetis, Argentina) más 2 mg de BE (BE, Zoetis, Argentina); Día 7 retiro dispositivo, cloprostenol 500 μg (Ciclase DL, Zoetis, Argentina) y 0,5 mg de ECP (Cipiocyn, Zoetis, Argentina); IATF 48 a 54 horas del retiro del dispositivo.



**Figura 2.** Tratamiento BE: Día 0 dispositivo intravaginal (DIB de 0,5 g, Zoetis, Argentina) más 2 mg de BE (BE, Zoetis, Argentina); Día 7 retiro dispositivo, cloprostenol 500 μg (Ciclase DL, Zoetis, Argentina); Día 8, 1 mg de BE (BE, Zoetis, Argentina); IATF 48 a 54 horas del retiro del dispositivo.



**Figura 3.** Tratamiento J – Synch: Día 0 Dispositivo intravaginal (DIB de 0,5 g, Zoetis, Argentina); 2 mg de BE (BE, Zoetis, Argentina); Día 6 retiro dispositivo y Cloprostenol 500 μg (Ciclase DL, Zoetis, Argentina); IATF 72 horas del retiro del dispositivo con 2 ml de GNRH (Gonasyn GDR, Gonadorelina Acetato, Zoetis, Argentina).

### Ultrasonografía.

En el Día 7, (momento del retiro del dispositivo intravaginal) se realizó la primera medición folicular a través de ultrasonografía con ecógrafo veterinario (Ibex Pro y Lyte®, USA) con sonda lineal de 5.0 MHz en modo B. Para esto las vacas fueron inmovilizadas en el cepo donde se les efectuó la ultrasonografía transrectal para registrar todas las estructuras ováricas. En ambos ovarios se hizo un mapeo para medir el desarrollo folicular e identificar al folículo dominante el cual se definió al de mayor diámetro. Al Día 9 se realizó otra medición folicular para ver el comportamiento de los folículos. Todas las estructuras fueron medidas mediante el software del equipo (utilizando su calibre) tanto para el desarrollo folicular como para el tamaño del CL, para ello siempre se tomaron dos medidas el diámetro vertical y el horizontal (alto y ancho) de los folículos y se promedió entre ambas para obtener una medida más aproximada (Kastelic *et al.*, 1990).

Para determinar el momento de la ovulación (desaparición del folículo de mayor diámetro) se continuó evaluando mediante ultrasonografía el desarrollo folicular, para ello se realizó una ecografía a 12 horas posterior de la IATF, luego a los animales que aún no habían registrado se realizó otra ultrasonografía a las 24 horas y a los animales que aún no habían ovulado hasta esta instancia se determinó subjetivamente que ovularon > 24 horas posteriores a la IATF lo que se reconfirmó con la presencia del CL a los 7 días pos IATF.

La evaluación de los CL se realizó al Día 7 pos-ovulación a través de ultrasonografía transrectal. Para esto siempre se tomaron dos medidas mediante el software del equipo las cuales fueron el diámetro vertical y el horizontal (ancho y alto) de cada CL y se promedió entre ambas para obtener una medida más aproximada (Kastelic *et al.*, 1990).

### Detección de celos

Los celos fueron registrados a través del método visual y también con marcador de pintura (Markings tick, Divasa- Farmavic, España) en la base de la cola para facilitar la detección el cual fue subjetivo, considerando como manifestación de estro cuando la misma fue despintada por acción de la monta de otro animal. La visualización se inició posterior al retiro del dispositivo intravaginal durante 3 veces por día: mañana, medio día y tarde (Días 7, 8 y 9) hasta previo a la IATF.

### Inseminación artificial a tiempo fijo - IATF

Las vacas fueron IATF en el Día 9 a las 48 a 54 horas de la aplicación del PGF en los tratamientos convencionales. En el tratamiento con proestro prolongado J - Synch se realizó la IATF al Día 9, a las 72 horas de la PGF. Para la IATF se utilizó semen congelado/descongelado de varios toros. Todos fueron evaluados basándose en los valores mínimos referidos por (Barth *et al.*, 1995a).

### Toma de sangre y análisis de progesterona

Al Día 7 pos—ovulación, se realizó la toma de una muestra de sangre para el análisis hormonal de progesterona. Las vacas fueron inmovilizadas en el cepo, después de limpiar y desinfectar la base de la cola, por punción se extrajo sangre de la vena coccígea media, con agujas y tubos vacutainer sin anticoagulante donde se tomaron muestras de 10 ml de sangre. Las muestras fueron conservadas a 4°C durante 4-6 horas desde su extracción hasta el laboratorio del Centro de Investigación Posgrado y conservación de la Amazonía – CIPCA en donde las muestras fueron centrifugadas a 3000 RPM durante 20 minutos para separar el suero que se congeló a –20°C hasta su posterior análisis (de Castro *et al.*, 2004).

Las concentraciones séricas de progesterona fueron determinadas todas juntas por duplicado mediante Kits de progesterona (Progesterone ELISA, DiaMetra S.R.L., Italy) con la técnica de Elisa (Linked Inmuno absorvent Assay), la cual se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción, cuyo producto es una coloración que es espectrofométricamente medida (Cooper *et al.*, 1991). En la sensibilidad la concentración mínima de progesterona detectable que puede distinguirse del calibrador 0 fue de 0.05 ng/ml con un límite de confianza del 95%. El coeficiente de variación (CV) intra-ensayo bajo (4,4%) y alto (19,5%).

### Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de preñez se determinó por medio de ultrasonografía a los 35 a 40 días pos- IATF.

### Análisis estadístico

Las mediciones experimentales efectuadas en la presente investigación fueron las siguientes:

Expresión de celo (presencia /ausencia).

Desarrollo folicular (mm).

Momento de la ovulación (horas).

Tamaño de CL pos- ovulación (mm).

Calidad de CL a través de medición de Progesterona en sangre pos- inseminación (ng/ ml).

Tasa de concepción (%).

Para cada variable continua estudiada se estimó la media aritmética (X) y el error estándar (EE). Se probó si existían diferencias significativas entre los tratamientos mediante la aplicación de análisis de la variancia (ANOVA) a un criterio de clasificación y pruebas de comparaciones múltiples de Tukey- Kramer HSD ( $P \le 0.05$ ). Para la tasa de ovulación y la tasa de preñez se obtuvieron la mediana y sus rangos y se la analizó a través del test Wilcoxon/Kruskal-Wallis ( $P \le 0.05$ ). Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa JMP (JMP®, 2003) en su versión 5.0 para Windows.

### **RESULTADOS**

#### Presencia de celo

Existió un 90,4% (272/301) de presencia de celo del total de animales para los tratamientos. El porcentaje de animales con presencia de celo en el tratamiento J- Synch fue 78,2% (79/101), en el tratamiento ECP fue de 93% (93/100) y en el tratamiento BE la presencia de celo fue de 100% (100/100) (P <0,0001). Existiendo una diferencia entre el tratamiento J- Synch y los tratamientos convenciones ECP y BE donde existió mejor presencia de celo.

Tabla 2. Presencia de celo en vacas doble propósito sometidas al tratamiento J-Synch, tratamiento ECP y tratamiento BE.

TRATAMIENTOS	Nº- animales	Con celo	Sin celo	% TOTAL
J- Synch	101	79	22	78,2
ECP	100	93	7	93,0
BE	100	100	0	100
TOTAL	301	272	29	90,4

#### Desarrollo folicular

El diámetro del folículo dominante en el momento de retirar el dispositivo intravaginal fue menor en el tratamiento J –Synch comparado con los otros dos tratamientos (Tabla 3; P<0,05). El diámetro del folículo dominante ovulatorio al momento de la IATF fue de mayor tamaño para el tratamiento J- Synch comparado con los otros dos tratamientos convencionales (Tabla 3; P<0,05).

Tabla 3. Respuesta ovárica (Promedio ± E.E- rango) en vacas doble propósito sometidas al tratamiento J-Synch, tratamiento ECP y tratamiento BE.

TRATAMIENTOS	N animales	Diámetro del	Diámetro del Folículo
		Folículo	Dominante a la IATF
		Dominante-	(mm)
		retiro (mm)	
J - Synch	101	$8,9 \pm 0.1b$	$13,5 \pm 0,1a$
		(6-12)	(8-16)
ECP	100	$9,7 \pm 0,1a$	$12,4 \pm 0,1c$
		(6-12)	(10-14)
BE	100	$9,5 \pm 0,1a$	$12,9 \pm 0,1b$
		(7-12)	(10-15)

<sup>&</sup>lt;sup>ab</sup> diferentes letras por columna diferencias significativas P(<0,05)

#### Momento de la ovulación

El intervalo medio de ovulación desde la remoción del dispositivo fue mayor (P<0,05) para el tratamiento J- Synch (87,7 $\pm$  0,6c) horas que para el grupo ECP (73,7 $\pm$  0,6b) y EB (75,7 $\pm$  0,6a) horas. Cuando se tomó el porcentaje de animales que ovularon en relación al momento de la IATF los resultados fueron los siguientes.

El porcentaje de los animales que ovularon hasta las 12 horas desde la IATF fue de 41,9% (126/301) y los que no lograron ovular hasta las 12 horas fue 58,1% (17/301) del total de animales evaluados. El porcentaje de vacas ovuladas hasta las 12 horas de la IATF fue mayor en el tratamiento J- Synch, alcanzando un 67,3% (P<0,0001), que en los tratamientos ECP (35%) y BE (23%; Tabla 4).

Tabla 4. Respuesta de ovulación a las 12 horas de la IATF en vacas doble propósito sometidas al tratamiento J-Synch, tratamiento ECP y tratamiento BE.

TRATAMIENTOS	N	Ovulación a 12	% ovulación
		horas	
J - Synch	101	68 /101	67,3 <sup>a</sup>
ЕСР	100	35 /100	35,0 <sup>b</sup>
BE	100	23 /100	23,0 <sup>b</sup>
TOTAL	301	126/301	41,9

<sup>&</sup>lt;sup>ab</sup> Porcentajes con distintos superíndices difieren (P<0,0001).

El porcentaje de los animales que habían ovulado entre las 12,1 y 24 horas después de la IATF fue de 54,5% (164/301); siendo significativamente menor para el tratamiento J- Synch (30,7%) en comparación con en el tratamiento ECP (65,0%) y en el tratamiento BE (68,0%) (P <0,0001; Tabla 5).

Tabla 5. Respuesta de ovulación a las 24 horas de la IATF en vacas doble propósito sometidas al tratamiento J-Synch, tratamiento ECP y tratamiento BE.

TRATAMIENTOS	N°	Ovulación	% ovulación	Ovulación	%
	animales	entre las		acumulada 12	ovulación
		12,1 y 24		+ 24 H	
		horas de la			
		IATF			
J - Synch	101	31 / 101	30,7 b	99 / 101	98,0
ECP	100	65 /100	65,0 <sup>a</sup>	100 / 100	100
BE	100	68 /100	$68,0^{a}$	91 / 100	93,0
TOTAL	301	164 /301	54,5	290 / 3001	97,0

<sup>&</sup>lt;sup>ab</sup> Porcentajes con distintos superíndices difieren (P<0,0001).

El porcentaje de los animales que ovularon después de las 24 horas de la IATF fue de 3% (9/301). El porcentaje de presencia de ovulación posterior a las 24 horas de la IATF en el tratamiento J - Synch fue un 0%, de igual manera en el tratamiento ECP fue 0% y en el tratamiento BE se obtuvo un 9% no existiendo deferencia significativa ( $P \ge 0,1$ ; Tabla 6).

Tabla 6. Respuesta de ovulación posterior a las 24 horas de la IATF en vacas doble propósito sometidas al tratamiento J-Synch, tratamiento ECP y tratamiento BE.

TRATAMIENTOS	$N^o$	Ovulación pos a 24	% ovulación
	animales	horas	
J - Synch	101	0 / 101	0
ECP	100	0 / 00	0
BE	100	9 /100	9
TOTAL	301	9 /301	3

En las Figuras 4, 5 y 6 se muestran el momento de la ovulación en cada grupo y la tasa de preñez a la IATF. En el tratamiento J- Synch se obtuvo un porcentaje de ovulación de 98% con una taza de preñez de 59,4%, en el tratamiento ECP un 100% de ovulación y 53,5% en la tasa de preñez y el tratamiento BE 97,0% de ovulación con 53,0% de tasa de preñez.

.

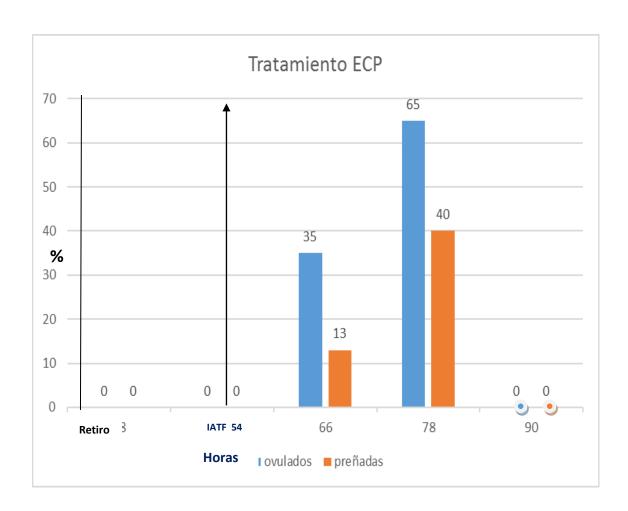


Figura 4. Respuesta en porcentaje de la ovulación y tasa de preñez registrados a las 12 horas, 24 y posterior a las 24 horas de realizada la IATF en vacas doble propósito sometidas al tratamiento ECP.

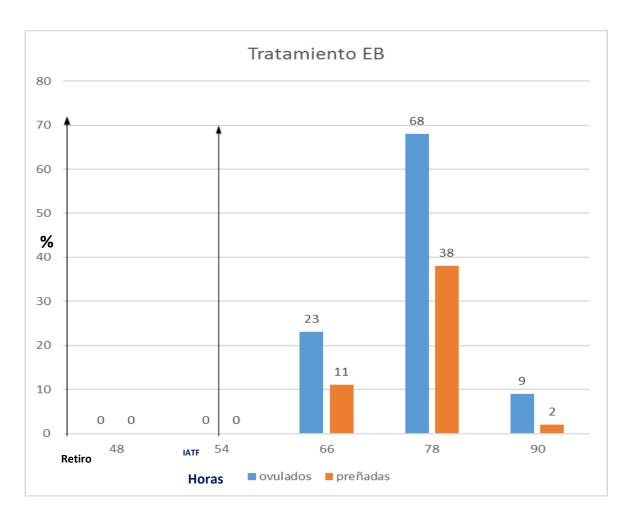


Figura 5. Respuesta en porcentaje de la ovulación y tasa de preñez registrados a las 12 horas, 24 y posterior a las 24 horas de realizada la IATF en vacas doble propósito sometidas al tratamiento BE (EB).

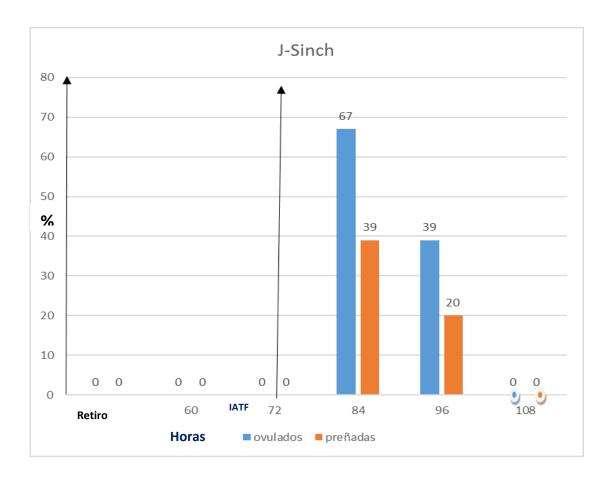


Figura 6. Respuesta en porcentaje de la ovulación y tasa de preñez registrados a las 12 horas, 24 y posterior a las 24 horas de realizada la IATF en vacas doble propósito sometidas al tratamiento J - Synch.

## Tamaño del CL y concentraciones séricas de progesterona.

El diámetro del CL fue mayor en el tratamiento J-Synch comparado con los otros dos tratamientos, los cuales no difirieron entre sí (Tabla 7). Con respecto a los niveles plasmáticos de progesterona, en el J-Synch se observó una mayor concentración en relación al BE (P≤0,05), no difiriendo del ECP. Este, no difirió de ninguno de los otros tratamientos (P>0,05)

Tabla 7. Tamaño CL y concentraciones séricas de progesterona al día 7 pos IATF (promedio ± E.E- rango) en vacas doble propósito sometidas al tratamiento J-Synch, tratamiento ECP y tratamiento BE.

TRATAMIENTOS	N. animales	Tamaño CL	Concentraciones
		(mm)	progesterona (ng/ml)
J – Synch	101	$25,4 \pm 0,2^{a}$	$11,4 \pm 0,3$ a
		(22 - 29)	(4.85 - 21.34)
ECP	100	24,2 $\pm$ 0,2 $^{\rm b}$	$10,6 \pm 0,3$ ab
		(20 - 28.9)	(3.56 - 18.45)
BE	100	24,5 $\pm$ 0,2 $^{\rm b}$	$9.9 \pm 0.3$ b
		(18-28)	(4.07 - 18.65)

ab diferentes letras por columna indican diferencias significativas  $P(\le 0.05)$ 

### Tasa de preñez

La tasa de preñez no difirió entre tratamiento (P>0,05), a pesar de las diferencias numéricas observadas (Tabla 8).

Tabla 8. Tasa de preñez en vacas doble propósito sometidas al tratamiento J-Synch, tratamiento ECP y tratamiento BE.

TRATAMIENTOS	Nº animales	Animales preñados	% preñez
J – Synch	101	60/101	59,4
ECP	100	53/100	53,0
BE	100	51/100	51,0
TOTAL	301	164 /301	54,5

En Tabla 9 se observa la relación existente entre los diámetros del folículo dominante al retiro del dispositivo intravaginal a la IATF y del CL al día 7 post IATF en las vacas que quedaron preñadas o vacías en los tres tratamientos estudiados.

Tabla 9. Características foliculares y luteales en vacas que quedaron preñadas o vacías en los tres tratamientos estudiados.

Variable	Preñez	N	Media	E.E	P
Fol. Dom. al retiro	P	164	9,8	0,2	
(mm)	V	137	8,7	0,3	<0,0001
Fol. Dom. a la IATF	P	164	13,4	0,2	
(mm)	V	137	12,3	0,3	<0,0001
CL Día 7 Post IATF	P	164	24,9	0,8	
(mm)	V	137	24,5	0,9	0,0861

Confirmación de preñez: (P) animales preñados; (V) animales no preñados.

## **DISCUSIÓN**

En la amazonia ecuatoriana el 82% de la superficie con uso agropecuario está dedicada a pastizales, lo cual demuestra que la ganadería es uno de los rubros de mayor importancia para la economía campesina y es donde se genera el 8% de la producción total de leche de Ecuador. Los sistemas tropicales ofrecen ventajas comparativas, la estrategia se basa fundamentalmente en el aprovechamiento de la abundante energía solar disponible para una fotosíntesis eficiente por parte de especies forrajeras megatérmicas ("C4") de rápido crecimiento, así como en la disponibilidad de agua.

En Ecuador, al igual que en muchos países del trópico y subtrópico en general, ha existido una fuerte tendencia a la sustitución de las razas locales por razas puras exóticas, con el fin de incrementar los niveles de producción de leche. Estas razas incorporadas provenían de regiones donde las condiciones climáticas y nutricionales eran más favorables que las imperantes bajo condiciones del trópico, por lo cual su rendimiento reproductivo disminuyó.

La eficiencia reproductiva es un reto para las ganaderías y los productores de leche y carne en el mundo. Uno de los principales problemas en los hatos es el retraso en el reinicio de la actividad ovárica después del parto (Guáqueta *et al.*, 2014). El medio ambiente, genética, alimentación, sanidad y manejo animal constituyen los factores determinantes de la reproducción bovina y que la combinación entre ellos origina parámetros reproductivos no siempre cercanos a los ideales.

Los resultados de preñez encontrados en esta región sobre todo en vacas doble propósito coinciden con otros trabajos de la región tropical (Baruselli *et al.*, 2004; López, 2011) y en otros lugares de Latinoamérica (López *et al.*, 2014; Quinteros, 2009). En la ganadería bovina tropical, los factores relacionados con el comportamiento reproductivo, abarcan las relacionadas con el medio ambiente adverso propio de la zona y las relacionadas con un manejo animal deficiente, incluyendo los aspectos nutricionales, condiciones de manejo de los animales previos al servicio, así como los factores genéticos y sanitarios (Huanca, 2013). El anestro postparto, con el consiguiente incremento del

intervalo entre partos, es una de las principales causas de pérdidas económicas de la ganadería bovina bajo condiciones tropicales. El intervalo entre el parto y el primer celo postparto está influenciado por el consumo y calidad del alimento, variaciones en el peso, condición corporal al parto e interacciones entre estos factores.

La corta duración del estro, la tendencia a mostrar el estro durante la noche, afecta en gran medida la eficiencia de los programas de IA en las áreas tropicales en donde los tratamientos utilizados son diversos. La mayoría se basa en progesterona, BE y combinaciones de GnRH y PGF (Baruselli *et al.*, 2004). En los resultados encontrados en este trabajo en expresión de celo existió un 90,4% del total de animales, coincidiendo con de la Mata *et al.* (2015), donde la tasa de detección de celo no difirió entre grupos en protocolos J –Synch; sin embargo, Pitaluga *et al.* (2013), encontraron mayor proporción de vacas en estro, una mejor respuesta ovulatoria y una tendencia a mejorar el diámetro de CL durante la fase luteal temprana en vacas en las cuales se manipuló el período de proestro con gonadotrofinas (eCG) y ECP. de la Mata *et al.*, (2013b) obtuvieron celo en vaquillonas al momento de la IATF y por ende mostraron su pintura "borrada", por lo cual tuvieron un mayor porcentaje de preñez que las que no lo hicieron, encontrando resultados de un 59% de manifestación de celos en algunos trabajos por lo que sugieren el uso de pintura como método de ayuda para detectar celos sería una alternativa para mejorar los resultados de preñez en programas de IATF.

Los resultados reproductivos de esta investigación mostraron que la tasa de preñez, sin tener en cuenta los protocolos utilizados en las 301 vacas doble propósito inseminadas, fue del 54,5%, utilizando el tratamiento con BE se preñaron el 51% de las vacas, con el tratamiento con ECP se preñaron el 53% de las vacas y con el tratamiento J- Synch se preñaron el 59,4% de las vacas, no encontrándose diferencias significativas. Esto coincide con reportes de otros investigadores utilizando similares protocolos de IATF, en donde el valor registrado (BE: 51% y CPE: 53%), se encuentran dentro del rango citado en la bibliografía que va de 43,3% a 62,7% (Chesta *et al.*, 2009a; Cutaia *et al.*, 2007, 2009; Sales *et al.*, 2012) y similar a lo reportado por Callejas *et al.*, (2014), utilizando los mismos protocolos, pero en vaquillonas. Los resultados de preñez también coinciden con diferentes trabajos realizados en algunas zonas Tropicales (Quinteros *et al.*, 2016; Ortiz *et* 

al., 2015; Yánez et al., 2016). Las comparaciones de los dos protocolos convencionales (BE y ECP) utilizados no mostraron diferencias significativas coincidiendo, con un trabajo en donde el uso de ECP administrado en el momento de retirar el dispositivo intravaginal con progesterona en lugar del BE permitió obtener en la mayoría de las veces similares porcentajes de preñez (Chesta et al., 2009b; Callejas et al., 2014). Otros trabajos han demostrado los mismos resultados, utilizando el ECP al retiro de los dispositivos permitiendo disminuir el número de encierres de los animales, y obteniendo porcentajes de preñez equivalentes al BE aplicado 24 horas posteriores (Crepaldi et al., 2009; Meneghetti et al., 2009). La posibilidad que ofrece el ECP permitiendo disminuir un día de encierre repercutiría en varios factores que haría más eficiente el sistema desde lo económico y desde el animal (Bautista, 2015). Pero en la Amazonía, además, habría que tener en cuenta que reduciría en un día las dificultades que implica llegar al establecimiento (López et al., 2014). En el tratamiento J- Synch donde se obtuvo un resultado de preñez de un 59,4% es similar a un trabajo de la Mata y Bó (2012), en donde compararon el protocolo J-Synch con el Co-Synch de cinco días en vaquillonas de carne donde el porcentaje de concepción estuvo entre (50% vs. 57%) y a otros más recientes (Bó et al., 2016) donde se reportaron tasas de preñez significativamente mayores con el protocolo J-Synch que con el convencional con ECP. Además, este protocolo demostró alcanzar aceptables tasas de preñez en receptoras de embriones sincronizadas y transferidas en el Día 7, con una tasa de preñez que superó el 60% (de la Mata et al., 2013a). Observaciones de campo (de la Mata, com. pers,) sobre 1576 vaquillonas Angus y Hereford inseminadas en rodeos comerciales con el protocolo J-Synch, muestran una tasa de preñez promedio de 60% (rango entre 35 a 76,6%).

Datos similares fueron encontrados en vaquillonas Holando- Argentino donde se comparó un protocolo convencional BE, J – Synch y un Co – Synch de 5 días (BE: 58,5%; J- Synch: 64,6%; Co-Synch: 64,9%; Ré *et al.*, 2014). Estos datos son comparables a los informados por Day y Bridges (2015), en los que sobre un total de 7352 vacas posparto para carne inseminadas con protocolo Co-Synch + CIDR de 5 días, promedió una tasa de preñez de 63%.

El tratamiento J-Synch demostró ser eficiente y lograr tasas de preñez aceptables en vaquillonas para carne y para leche, las tasas de preñez superaron el 55% en la mayoría de los experimentos (Bo *et al.*, 2016). Esto demuestra que la prolongación del proestro en el J-Synch resulta en un efecto positivo y logra mayores tasas de preñez que los tratamientos convencionales en vaquillonas *Bos taurus* para carne y para leche. En las vacas doble propósito de esta tesis solo se logró una mayor tasa de preñez numérica, pero no significativa probablemente debido al tamaño muestral utilizado que no permitió que las diferencias sean significativas (Di Rienzo *et al.*, 2011).

La tasa de preñez también puede deberse en parte, al nivel de ciclicidad y a la condición corporal, por tal motivo son otros factores que deben ser tomados en cuenta a la hora de decidir implementar un programa de IATF (Humbolt *et al.*, 1996). Para este estudio la condición corporal fue un factor controlado, por lo tanto, no debería haber afectado los resultados, ya que fue una de las variables tenidas en cuenta.

van Eerdenburg et al. (2002) cita a que menos del 50% de las vacas que ovulan muestran síntomas de celo. Para planificar el momento de la IA es necesario conocer el momento de manifestación del estro y el diámetro del folículo preovulatorio. Esta relación implica que las vacas con folículos preovulatorios mayores muestran comportamiento estral más intenso; así, se ha reportado que vacas con folículos más grandes estarían más cerca de la ovulación (van Eerdenburg et al., 2002). Esto coincide con lo encontrado por Yanes et al. (2016) en donde las vacas lecheras que tuvieron un mayor desarrollo folicular (preñadas: 13,4± 1,1 mm; vacías: 10,4±1,3 mm), tuvieron 14 veces más chances de quedar preñadas que de quedar vacías. En vaquillonas de carne se encontró un máximo de probabilidad de preñez cuando el tamaño folicular en el momento de la inseminación artificial fue de 12,8 mm, mientras que por debajo de 10,7 mm o por encima de 15,7 mm tuvieron menos posibilidades de lograr una preñez (Perry et al., 2007). Cuando el tamaño del folículo se mantiene, el proestro tuvo una influencia importante sobre la tasa de concepción, esto se relacionó con la maduración folicular y fertilidad (Day et al., 2010). La prolongación del proestro genera mayores concentraciones séricas circulantes de estradiol producido por el Folículo Dominante,

favoreciendo la madurez folicular y mejorando la fertilidad (Bridges *et al.*, 2008; 2010; 2012; 2014).

Los resultados de los diámetros de los folículos dominantes ovulatorios encontrados en este trabajo coinciden con los citados anteriormente en donde el tratamiento J-Synch presentó el menor valor al retiro (8,9  $\pm$  0,1 mm) pero mostró el mayor tamaño al momento de la IATF (13,5  $\pm$  0,1 mm) en comparación con el tratamiento ECP que presentó un mayor tamaño al retiro de (9,7  $\pm$  0,1 mm) y un tamaño a la IATF de 12,4  $\pm$  0,1 mm y el tratamiento BE que tuvo un tamaño de 9,5  $\pm$  0,1 mm al retiro del dispositivo y un tamaño 12,9  $\pm$  0,1 mm a la IATF , siendo menores a lo alcanzando por el folículo dominante ovulatorio del tratamiento J- Synch.

Un trabajo de la Mata y Bó, (2012) en donde compararon el protocolo J-Synch con el Co-Synch de cinco días en vaquillonas de carne, los tratamientos no difirieron en la tasa ovulatoria (91,6% vs. 92,8%), la hora media de ovulación (97,1 $\pm$ 17,4 horas vs. 95,1 $\pm$ 12,5 horas). En otro experimento en Uruguay se evaluó el porcentaje de animales ovulados en donde no varió entre grupos analizados y fue 87,5% para el tratamiento J – Synch mientras que del 100% para el grupo convencional en donde las vaquillonas pertenecientes al grupo J- Synch mostraron un horario medio de ovulación de 93,7  $\pm$  12,9 horas que fue mayor al del tratamiento convencional, con una media de 65,0  $\pm$  13,7 horas (de la Mata *et al.*, 2015).

El porcentaje de los animales que ovularon hasta las 12 horas de la IATF fue de 41,9 % (126/301). El porcentaje que ovularon en ese periodo para el tratamiento J - Synch fue el mayor alcanzando con un 67,3%. En el tratamiento ECP se obtuvo un 35% y en el tratamiento BE se obtuvo un 23% de presencia de ovulación que fue el menor porcentaje a las 12 horas. El porcentaje general de los animales que ovularon entre las 12,1 y 24 horas desde la IATF fue de 54,5% (164/301). En cuanto a los tratamientos las tasas de ovulación para este periodo fueron de 30,7% para el tratamiento J-Synch, mientras que en el tratamiento ECP se alcanzó 65% y en el tratamiento BE se obtuvo un 68%. El porcentaje de los animales que tuvieron un horario de ovulación posterior a las 24 horas de la IATF fue del 3% (9/301) y todas esas vacas correspondieron al grupo EB. La determinación del momento de la ovulación 12, 24 y posterior a las 24 horas de la

IATF fue muy importante dentro de esta investigación en conjunto con la determinación de la presencia de celo en esta zona tropical y poderlo relacionar con las tasas de preñez encontradas ya que normalmente la ovulación en las vacas ocurre a las 24 y 32 horas desde que inicia el celo (Trimberger, 1948; Walker *et al.*, 1996). Después de que ocurre la ovulación el ovocito tiene un período corto para ser fecundado. La fertilidad óptima se obtiene 6 a 12 horas después de la ovulación (Brackett *et al.*, 1980) y la viabilidad media de los espermatozoides en el tracto genital de la hembra se estipula entre 24 y 30 horas (Trimberger, 1948), con estos resultados encontrados en estos primeros experimentos nos da el inicio para seguir analizando las horas más apropiadas para realizar la IATF en el tratamiento J- Synch en esta zona particular.

Dentro de los tres grupos estudiados existieron pocos animales que presentaron celo temprano sobre todo en el tratamiento J- Synch, pero todos los animales fueron IATF en las horas programadas, en los tres tratamientos existió buena presencia de celo antes de la IATF lo que se ve reflejada en las tasas de preñez por lograr mejores concentraciones séricas de estradiol pre ovulatorio y debido a esto, se logró un mejor diámetro del folículo dominante a la IATF y un mejor porcentaje de ovulación y un CL de mejor tamaño con mayor concentraciones séricas de progesterona (Perry *et al.*, 2005; 2007; Sá Filho *et al.*, 2011), esto contribuye en los primeros estadios embrionarios y con un número mayor de espermatozoides accesorios en la fecundación (Larimore, *et al.*, 2015).

de la Mata *et al.*, (2015) encontraron que el desarrollo luteal entre los días 4 y 13, luego de la ovulación, tendió a ser mayor en vaquillonas tratadas con el protocolo J-Synch en comparación con el tratamiento convencional con ECP. Se ha demostrado que las ovulaciones de folículos de pequeño diámetro producen una menor fertilidad debido al desarrollo de un CL pequeño que genera bajas concentraciones séricas de progesterona en circulación en la fase luteal subsiguiente (Vasconcelos *et al.*, 2001; Busch *et al.*, 2008). Esto se observa durante el desarrollo temprano del CL, mientras que al alcanzar la maduración del CL después del Día 8 del ciclo estral, su tamaño no influye en las concentraciones circulantes de progesterona (Mann, 2009). De la misma forma en este trabajo se analizó tamaño de CL y concentraciones séricas de progesterona en sangre 7 días después de la IATF, en la cual las vacas del tratamiento J-Synch alcanzaron un

promedio de 25,4 mm de diámetro del CL siendo el de mayor tamaño y concentraciones séricas de progesterona en sangre más altas de 11,4 ng/mL en sangre, el tratamiento ECP alcanzo 24,2 mm y concentraciones séricas de progesterona en sangre 10,6 ng/mL en sangre y en el tratamiento BE alcanzó un promedio de 24,6 mm de tamaño CL y concentraciones séricas de progesterona en sangre de 9,9 ng/mL en sangre. Con los resultados obtenidos de un mejor tamaño de CL y concentraciones séricas de progesterona en sangre en el tratamiento J- Synch se relaciona con el desarrollo folicular mayor, obtenidos en los folículos dominantes ovulatorios y las tasas de preñes que fueron numéricamente superiores en relación a los otros tratamientos estudiados.

Por último, existen varios puntos a destacar para la discusión de los resultados obtenidos. 1.- Es la primera investigación que se realizó en la Amazonia Ecuatoriana evaluando el comportamiento del tratamiento J- Synch, 2.- Los resultados generaron la base para muchos otros ensayos o para repetirlo con mayor número de vacas, 3.- Se presentó como una alternativa para mantener los % de tasas de concepción en comparación a los protocolos convencionales y 4.- A pesar que las diferencias no son significativas con respecto a los tratamientos convencionales, las tasas de preñez con el tratamiento J – Synch han sido numéricamente mayores, probablemente por tener un tamaño de folículo mayor a la IATF y un mayor CL, con mayores concentraciones séricas de progesterona al Día 7 de la IATF, estos resultados son muy alentadores para seguir trabajando y poder ajustar las horas al momento de la IATF o hacer modificaciones al protocolo J – Synch en vacas para leche, para carne o doble propósito de la Amazonía Ecuatoriana.

### **CONCLUSIONES**

Se concluye que la utilización de un protocolo de IATF con la prolongación del proestro y la reducción de los días con el dispositivo con progesterona al cual se denomina J– Synch, no mejoró la tasa de preñez en comparación con protocolos convencionales utilizando distintas sales de Estradiol en vacas doble propósito de la Amazonía Ecuatoriana. Sin embargo, las vacas tratadas con el protocolo J-Synch tuvieron un folículo dominante ovulatorio de mayor tamaño en el momento de la IATF y un CL de mayor tamaño, con mayores concentraciones séricas de progesterona en la fase luteal subsiguiente. Por último, se encontró que sin tener en cuenta el tratamiento de sincronización las vacas que se preñaron tuvieron un folículo de mayor tamaño en el momento de la IATF y tendieron a tener un CL de mayor diámetro que las vacas que no se preñaron a la IATF.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adams G.P. and Pierson R.A. 1995. Bovine model for estudy of ovarian folicular dynamics in humans. Theriogenology 43:113-120.
- Atkins J.A., Smith M.F., MacNeil M.D., Jinks E.M., Abreu F.M., Alexander L.J. and Geary T.W. 2013. Pregnancy establishment and maintenance in cattle. Journal of Animal Science 91: 722-733.
- Baruselli P.S., Reis E.L., Marques M.O., Nasser L.F. and Bó G.A. 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. Anim Reprod Sci. 83:479–486.
- Baruselli S.P., Ferreira R.M., Sales J.N.S., Gimenes L.U., Sá Filho M.F., Martins C.M., Rodríguez C.A. and Bó G.A. 2011. Timed embryo trasfer programs for management of donor and recipient cattle. Theriogenology 76:1583 1593.
- Baruselli P. S., Sales J.N.S., Sala R.V., Vieira L.M. and Sá Filho M.F. 2012. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. Animal Reproduction 9: 139 152.
- Barth A.D. 1995a. Evaluation of frozen Semen by the Veterinary Practitioner. Proc. Of Bovine Short Course. Society for Theriogenology, pp. 105-110.
- Barth A.D. 1995b. Bull Breeding Soundness Evaluation. Western Canadian Association of Bovine Practitioners, Dept. Herd Medicine and Theriogenology, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada.
- Bastos M.R., Meschiatti M.A.P., Surjus R.S., Prata A.B., Lemes A.P., Guardieiro M.M., Santos F.A.P. and Sartori R. 2010. Estrus length and intensity in *Bos taurus* (Holstein) v. *Bos indicus* (Nelore) nonlactating cows. Reproduction, Fertility and Development 23 110 (abstract).
- Bautista A.R. 2015. Evaluación de dos protocolos de IATF sobre la Tasa de Preñez y los niveles de LH en vaconas mestizas del CIPCA (Centro de Investigación, Posgrado y Conservación Amazónica) cantón Carlos Julio Arosemena Tola, Provincia de Napo. Tesis Grado. Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Ecuador, 120 pp.

- Bisinotto R.S., Ribeiro E.S., Martins L.T., Marsola R.S., Greco L.F. and Favoreto M.G. 2010. Effect of interval between induction of ovulation and artificial insemination (AI) y supplemental progesterone to a 5 timed AI program. J Dairy Sci. 93:5798 808.
- Bó G.A., Adams G.P., Pierson R.A. and Mapletoft R.J. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. Theriogenology 43: 31-40.
- Bó G.A., Cutaia L. y Brogliatti G.M., 2001a. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado bovino utilizando progestágenos y estradiol. En: Cuarto Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC); Córdoba. Argentina, junio, pp. 117-136.
- Bó G.A., Cutaia L., Brogliatti G.M., Medina M., Tríbulo R. y Tríbulo H. 2001b. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado bovino utilizando progestágenos y estradiol. Resúmenes Cuarto Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, pp. 117-136.
- Bó G.A. y Baruselli P.S. 2002a. Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en el Ganado Bovino en Regiones Subtropicales y Tropicales. Capítulo XXXI. En: Avances en la Ganadería doble propósito, C. Gonzalez- Stagnaro, Eleazar Soto Belloso y Lílido Ramírez Iglesia (Editores); Fundación Girarz, Maracaibo, Venezuela, pp. 499 514.
- Bó G.A., Baruselli P.S., Moreno D., Cutaia L., Caccia M., Tríbulo R., Tríbulo H. and Mapletoft R.J. 2002b. The control of follicular wave development for self appointed embryo transfer programs in cattle. Theriogenology; 57:53 72.
- Bó G.A., Cutaia, L. y Tribulo, R. 2002c. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Primera Parte. Taurus, p. 14: 10 21.
- Bó G.A., Cutaia L. y Tribulo R. 2002d. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Segunda Parte. Taurus; p. 15: 17 32.
- Bó G.A., Cutaia L., Chesta P., Balla E., Pincinato E., Peres L., Maraña D., Avilés M., Menchaca A., Veneranda G. y Baruselli, P. 2005. Implementación de Programas de Inseminación Artificial en Rodeos de Cría de Argentina. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina. Tomo I, pp. 97-128
- Bó G.A., Peres L.C., Cutaia L.E., Pincinato D., Baruselli P.S. and Mapletoft R.J. 2012. Treatments for the synchronisation of bovine recipients for fixed-time embryo transfer and improvement of pregnancy rates. Reproduction, Fertility and Development 24: 272- 277.

- Bó G.A., Baruselli P.S. and Mapletoft R.J. 2013. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. Animal Reproduction 10: 137-142.
- Bó G.A., de la Mata J.J., Ré M., Huguenine E. y Menchaca A. 2014. Inseminación Artificial a Tiempo Fijo utilizando tratamientos que acortan el período de inserción del dispositivo con progesterona y alargan el proestro. Memorias de las 7º Jornadas Taurus de Reproducción Bovina. p. 95-100.
- Bó G.A., de la Mata J.J., Baruselli P.S. and Menchaca A. 2016. Alternative programs for synchronizing and re-synchronizing ovulation in beef cattle. 18th International Congress of Animal Reproduction, Tours, France. Theriogenology (en prensa) DOI:10.1016/j.theriogenology.2016.04.053
- Brackett B.G., Oh Y.K., Evans J.F. and Donawick W.J. 1980. Fertilization and early development of cow ova. Biology of Reproduction 23: 189-205.
- Bridges, G.A., Hesler, L.A., Grum, D.E., Mussard, M.L., Gasser, C.L. and Day, M.L. 2008. Decreasing the interval between GnRH and PGF2α from 7 to 5 days and lengthening proestros increases timad-IA pregnancy rates in beef cow. Theriogenology 69: 843-851
- Bridges, G.A., Mussard, M.L., Burke, C.R. and Day, M.L. 2010. Influence of the length of proestros on fertility and endocrine function in female cattle. Anim. Reprod. Sci. 117: 208-2154.
- Bridges G.A., Ahola J.K., Brauner C., Cruppe L.H., Currin J.C., Day M.L., Gunn P.J., Jaeger J.R., Lake S.L., Lamb G.C., Marquezini G.H.L., Peel R.K., Radunz A.E., Stevenson J.S. and Whittier W.D. 2012a. Determination of the appropriate delivery of prostaglandin F2α in the five-day CO-Synch + controlled intravaginal drug release protocol in suckled beef cows. Journal of Animal Science 90: 4814-4822.
- Bridges G.A., Mussard M.L., Pate J.L., Ott T.L., Hansen T.R. and Day M.L. 2012b. Impact of preovulatory estradiol concentrations on conceptus development and uterine gene expression. Animal Reproduction Science 133: 16-26.
- Bridges G.A., Day M.L, Geary T.W., and Cruppe L.H. 2013. Deficiencies in the uterine environment and failure to support embryonic development. Journal of Animal Science 91: 3002-3013.
- Bridges G.A., Mussard M.L., Hesler L.A. and Day M.L. 2014. Comparison of follicular dynamics and hormone concentrations between the 7-day and 5-day CO-Synch + CIDR program in primiparous beef cows. Theriogenology 81: 632-638.

- Busch D.C., Atkins J.A., Bader J.F., Schafer D.J., Patterson D.J., Geary T.W. and Smith M.F. 2008. Effect of ovulatory follicle size and expression of estrus on progesterone secretion in beef cows. Journal of Animal Science 86: 553-563.
- Callejas, S.; Uslenghi, G.; Catalano, R.; Larghi, J.; Cabodevila, J 2014. Comparación de dos protocolos para sincronizar ovulación e implementar inseminación artificial en vaquillonas. Rev vet 25(2): 100-104.
- Cerri R.L.A., Rutigliano H.M., Chebel R.C., and Santos J.P. 2009. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactatins dairy cows. Reproduction 137: 813-823.
- Cesaroni G., Butler H.M. y Durand M.J. 2007. Evaluación del uso de dos esteres de estradiol sobre la tasa de Fertilidad a la IATF en vacas secas, tratadas con un dispositivo intravaginal con progesterona. En: Taurus, Buenos Aires, Argentina, pp. 12-18.
- Colazo M.G., Kastelic J.P. and Mapletoft R.J. 2003. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. Theriogenology 60: 855-865.
- Colazo M.G., Mapletoft R.J., Martínez M.F. and Kastelic J.P. 2009. Selección de los tratamientos hormonales disponibles en el mercado para la sincronización de celos en vaquillonas de carne. Resúmenes en CD del VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal. Pabellón Argentino, Ciudad Universitaria, Córdoba.
- Colazo M.G. and Ambrose D.J. 2011. Neither duration of progesterone insert nor initial GnRH treatment affected pregnancy per timed- insemination in dairy heifers subjected to a Co- Synch protocol. Theriogenology 76: 578- 588.
- Cooper, D.A., Carver, D.A., Villeneuve, P., Silvia, W.J. and Inskeep, E.K., 1991. Effects of progestagen treatment on concentrations of prostaglandins and oxytocin in plasma from the posterior vena cava of post-partum beef cows. J. Reprod. Fertil. 91, 411–421.
- Cutaia L., Moreno D., Villata M.L. and Bó G.A. 2001. Synchrony of ovulation in beef cows treated with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate administered at device removalor 24 hours later. Theriogenology; 55: 408.
- Cutaia L., Brogliatti G., Chesta P., Moreno D. G. y Bó G.A. 2003. Efecto del momento de la IATF sobre los porcentajes de preñez en vacas de carne sincronizadas con dispositivos con progesterona y benzoato de estradiol. Vº Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba. 2003. p. 385.

- Cutaia L., Peres L., Pincinato D., Chesta P.M., Ramos M., Bó G.A. 2007. Programas de sincronización de celos en vaquillonas de carne: puntos críticos a tener en cuenta. Anales VII Simp Intern Reprod Anim, Córdoba, Argentina, p. 83-104.
- Cutaia L., Ramos M. y Bó G.A. 2009. Efecto del momento de la IATF en vaquillonas de carne cruzas cebú tratadas con dispositivos con progesterona y cipionato de estradiol como inductor de la ovulación. VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal. IRAC 2009.
- Cutaia L., Ramos M., Chesta P. and Bó G.A. 2010 Pregnancy rates in suckled beef cows synchronized with progesterone intravaginal devices and receiving eCG 14 days after breeding. IETS Annual Meeting, Argentina.
- Cutaia L. y Bó G.A. 2011. Uso de la eCG asociado a programas reproductivos en vacas lecheras. I Simposio Latinoamericano de Reproducción Animal, Viña del Mar, Chile.; p. 137-147.
- Crepaldi G.A., Sales J.N.S., Teixeira A.A. y Baruselli P.S. 2009. Momento de la tasa de ovulación de vacas nelore tratadas con cipionato o benzoato de estradiol para inducir ovulación en protocolos de IATF. XVII Congreso Brasilero de Reproducción Animal, Belo Horizonte, Brasil. 2009.
- Crowe M., 2008. Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. Reprod. Domest. Anim. 43 Suppl 5, 20–8.
- Cruppe L.H., Day M.L., Abreu F.M., Kruse S., Lake S.L., Biehl M.V., Cipriano R.S., Mussard M.L. and Bridges G.A. 2014. The requirement of GnRH at the beginning of the five-day CO-Synch + controlled internal drug release protocol in beef heifers. Journal of Animal Science 92: 4198-4203.
- Chesta P., Filippi L., Ramos M., Racca D. y Bó G. 2009a. Evaluación de las tasas de preñez en protocolos de inseminación Artificial a tiempo fijo (IATF) utilizando diferentes dosis de cipionato de estradiol en vaquillonas Holando. Resumenes VII Simposio Internacional de Reproducción Animal IRAC, Córdoba, Argentina, CD nº12.
- Chesta P., Brandan A., Cuestas G., Quiñones G., Lozano P. y Tríbulo H. 2009b. Evaluación de diferentes dosis de cipionato De estradiol sobre la tasa de preñez en inseminación artificial a tiempo fijo en vaquillonas de 15 meses de edad. Resúmenes VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal IRAC, Córdoba, Argentina, CD N°13.
- Day M.L., Mussard M.L., Bridges G.A. and Burke C.R. 2010. Controlling the dominant follicle in beef cattle to improve estrous synchronization and early embryonic development. Proceedings of the Eighth International Symposium on Reproduction

- in Domestic Ruminants Society of Reproduction an Fertility, Anchorage, Alaska. Voleme 67 pp405-419.
- Day M.L. and Bridges G.A. 2015. Recientes avances en el uso del programa CIDR CO-Synch de 5 días en el ganado bovino para carne. Resúmenes del XI Simposio Internacional de Reproducción Animal. Pabellón Argentino, Cuidad Universitaria, Córdoba, pp 129-142.
  - de Castro, T., Valdez, L., Rodríguez, M., Benquet, N. and Rubianes, E., 2004. Decline in assayable progesterone in bovine serum under different storage conditions. Trop. Anim. Health Prod. 36: 381–384.
- de la Mata J.J. y Bó G.A. 2012. Sincronización de celos y ovulación utilizando protocolos de BE y GnRH en periodos reducidos de inserción de un dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne. Taurus 55: 17-23.
- de la Mata J.J., Ré M. and Bó. G.A 2013a. Combination of estrus detection and fixed-time artificial insemination in beef heifers following gashor tener estradiol- based protocol that provides for a lengthened proestrus. Reprod. Fert Dev. 27:96 (abstract).
- de la Mata J.J., de la Mata C.A. and Bó. G.A. 2013b. Evaluación del grado de despintado de la base de la cola sobre la tasa de preñez en vaquillonas Angus sincronizadas con un protocolo de IATF. Resúmenes X Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba. Argentina. p 308.
- de la Mata J.J., Menchaca A. y Bó G.A. 2015. Tratamientos que prolongan el proestro usando estradiol y progesterona en vaquillonas para carne. Resumenes X Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba. Argentina. p.143- 157.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M. y Robledo C.W. 2011. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Evans A.C.O., Adams G.P. and Rawlings N.C. 1994. Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepubertal heifers. J Reprod Fert. 100: 187 194.
- Evans A.C.O., Adams G.P. and Rawlings N.C. 1994. Follicular Endocrine and hormonal development in prepuberal heifers from 2 to 36 weeks of age. J Reprod Fert. 102:463-470.
- Feliciangeli H., Rodríguez M., Caniza M. 2007. Porcentaje de Preñez en vacas cruza cebú sin cría al pie tratadas con cipionato de estradiol versus benzoato de estradiol en programas de IATF. Resúmenes VII Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina. p. 261.

- Geary T.W., Smith M.F., MacNeil M.D., Day M.L., Bridges G.A., Perry G.A., Abreum F.M., Atkins J.A., Pohler K.G., Jinks E.M. and Madsen C.A. 2013. Influence of follicular characteristics of ovulation on early embryonic survival. J of Anim Sci 91: 3014-3021.
- Giacusa N., Cutaia L. y Bó G.A. 2005. Efecto de la utilización de cipionato de estradiol como inductor de la ovulación aplicando al momento del retiro de un dispositivo con progesterona o 24 horas más tarde sobre los porcentajes de preñez en vacas con cría. Resumenes VI Simposio Internacional de Reproducción Animal. IRAC, Cordoba, Argentina. p. 230.
- Ginther O.J., Kanopf L. and Kastelic J.P. 1989a. Ovarian follicular dynamics in heifers during early pregnancy. Biol Reprod. 41: 247-254.
- Ginther O.J., Kanopf L. and Kastelic J.P. 1989b. Temporal associations among ovarian events in cattle during estrous cycles with two and three follicular waves. J Reprod Fertil. 87: 223-230.
- Ginther O.J., Kot K., Kulick L.J., Martin S. and Wilbank M.C. 1996a. Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle. J Reprod Fer; 108: 271- 279.
- Ginther O.J., Wiltbank M.C., Fricke P.M., Gibbons J.R., Kot K.1996b. Selection of the dominant follicle in cattle. Biol Reprod. 55: 1187- 1194.
- Guáqueta H.M., Zambrano J.V. and Jiménez C.E. 2014. Risk factors for ovarian postpartum resumption in Holstein cows, under high tropical conditions. Rev Med Vet Zoot Córdoba 19: 3970-3983.
- Huanca W. 2013. Alternativas para mejorar el comportamiento reproductivo en ganado bovino cruzado (Bos taurus x Bos indicus). Archivos Latinoamericanos de Producción Animal. Vol. 21, Núm. 3: 181-183.
- Humbolt P., Grimard B. and Mialot J. 1996. Sources of variation of post-partum cyclicity, ovulation and pregnancy rates in suckled beef cows treated with progestagen and PMSG. Proceedings Society for Theriogenology Meeting, Kansas City. 36 45.
- Kasimanickam R., Asay M., Firth P., Whittier W.D. and Hall J.B. 2012. Artificial insemination at 56 h after intravaginal progesterone device removal improved AI pregnancy rate I beef heifers synchronized with five-day CO-Synch + controlled internal drug release (CIDR) protocol. Theriogenology 77: 1624-1631.
- Kasimanickam R., Firth P., Schuenemann G.M., Whitlock B.K., Gay J.M., Moore D.A., Hall J.B. and Whittier W.D. 2014. Effect of the first GnRH and two doses of PGF2α in a 5-day progesterone-based Co-Synch protocol on heifer pregnancy. Theriogenology 81: 797-804.

- Kastelic J.P., Bergefelt D.R. and Ginther O.J. 1990. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. Theriogenology 33: 1269-1278.
- Larimore E.L., Amundson O.L., Bird S.L., Funnell B.J., Kruse S.G., Bridges G.A. and Perry G.A. 2015. Influence of estrus at fixed-time artificial insemination on early embryonic development in beef cattle. Journal of Animal Science 93: 2806-2812.
- López L.M.V. 2011. Evaluación de fecundidad en vacas Holstein Friesian inseminadas a diferentes tiempos del umbral detectado por el sistema heatime. Tesis Grado. Sangolquí, Ecuador. Universidad Superior Politécnica del Ejército. Rev. Cient. pp 95.
- López P. J.C. 2014. Evaluación de dos sales de estradiol sobre la tasa de concepción a la IATF en vacas doble propósito en la Amazonía ecuatoriana. Tesis Especialización. Zipaquirá, Colombia. Instituto de Reproducción Animal de Córdoba, Argentina. pp. 25.
- López J.C., Moyano J.C., Quinteros R., Vargas J.C., Daniel Rentería I.C., Lammoglia M. y Marini P.R. 2014. Relación entre genotipos y preñez con un protocolo de inseminación artificial en vacas en la amazonia ecuatoriana. Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan 2(4):885-890.
- Mann G.E. 2009. Corpus luteum size and plasma progesterone concentrations in cows. Animal Reproduction Science, (Short communication) 115: 296-299.
- Martínez M.F., Kastelic J.P., Adams G.P., Janzen E., McCartney D. and Mapletoft R.J. 2000. Estrus synchronization and fertility in beef cattle given a CIDR and estradiol or GnRH. Can. Vet. J. 41, pp. 786 790.
- Maquivar, M. and Day, M.L. 2011. Estrategias nutricionales y hormonales para la inducción a la pubertad en vaquillonas de carne y su impacto en la fertilidad. Taurus 13: 4-33.
- Meneghetti M., Sá-Filho O.G., Peres R.F., Lamb G.C. and Vasconcelos J.L. 2009. Fixed time artificial insemination with estradiol and progesterone for Bos indicus cows I: Basis for development of protocols. Theriogenology 72: 179-189.
- Menchaca A., Vilariño M. and Ibarra D. 2006. GnRH and eCG associated with a progesterone treatment increased pregnancy rate after FTAI in prepueral heifers. Proceeding of the 7th International Ruminant Reproduction Symposium, Wellington, Nueva Zelanda.
- Menchaca A., Núñez R., Wijma R., García Pintos C., Fabini F., de Castro T. 2013. How fertility can be improved in fixed-time AI programs in beef cattle. Resúmenes X Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba. pp. 103-134.

- Menchaca A., Dutra S., Carrau J.M., Sapriza F., Salazar J., de la Mata J.J. and Bó G.A. 2015. Improvement of pregnancy rate by using the 6-day J-Synch protocol in recipient cows transferred with in vitro produced embryos. Animal Reproduction 12 p. 651 (abstract).
- Moreno D., Cutaia L., Villata M.L., Ortisi F. and Bó G.A. 2001. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and progesterone. Theriogenology 55: 408 (abstract).
- Moyano J.C., López J.C., Vargas J., Quinteros O.R. and Marini P.R. 2015. Plasmaspiegel von LH (luteinisierendes Hormon), Brunstsymptome und Qualität der Gelbkörper in verschiedenen Protokollen, zur Synchronisation der Brunst in Brown-Swiss-Milchrindern. Züchtungskunde. 87, (4) S. XXX–XXX, 2015.
- Murphy M.G., Boland M.P. and Roche J.F. 1990. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post partum suckled beef cows. J Reprod Fertil.; 90: 523-533.
- Murphy M.G., Enright W.J., Crowe M.A., McConnell K., Boland M.P. and Roche J.F. 1991. Effect of dietary intake of pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle in beef heifers. J Reprod Fertil.; 92: 333-338.
- Murphy B.D., 2012. Equine chorionic gonadotropin: an enigmatic but essential tool. Anim. Reprod. 9, 223–230.
- Mussard M.L., Burke C.R., Behlke E.J., Gasser C.L. and Day M.L. 2007. Influence of premature induction of a luteinizing hormone surge with gonadotropin-releasing hormone on ovulation, luteal function, and fertility in cattle. Journal of Animal Science 85: 937-943.
- Nogueira M.F.G., Melo D.S., Carvalho L.M., Fuck E.J., Trinca L. and Barros C.M., 2004. Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF2alpha and eCG? Theriogenology 61, 1283–90.
- Núñes-Olivera R., de Castro T., García-Pinto C., Bó G.A., Piaggio J. and Menchaca A. 2014. Ovulatory response and luteal function after eCG administration at the end of a progesterone and estradiol based treatment in postpartum anestrous beef cattle. Animal Reproduction Science 146: 111-116.
- Ortiz N.R., Castro W.E., Lammoglia M., Daniel Renteria I.C. and Marini P.R. 2015. Eficiencia reproductiva de diferentes genotipos bovinos en la amazonia ecuatoriana. Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan. 4(6):1339-1343.
- Pérez Wallace S. 2013. Tratamientos hormonales para reducir pérdidas de gestación en vacas lecheras. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Argentina. 90pp.

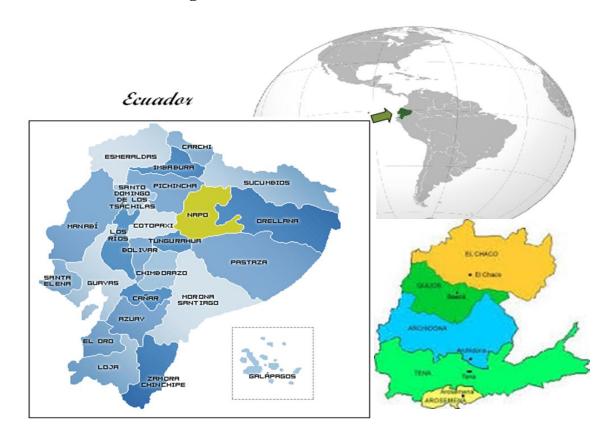
- Perry G.A., Smith M.F., Lucy M.C., Green J.A., Parks T.E., MacNeil M.D., Roberts A.J. and Geary T.W. 2005. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 5268-5273.
- Perry G.A., Smith M.F., Roberts A.J., MacNeil M.D. and Geary T.W. 2007. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. J. Anim. Sci. 85: 684-519.
- Peter A.T., Vos P.L. A. and Ambrose D.J. 2009. Postpartum anestrus in dairy cattle. Theriogenology. 71:1333-1342.
- Peterson C., Alkar A., Smith S., Kerr S., Hall J.B., Moore D., Kasimanickam R. 2011. Effects of one versus two doses of prostaglandin F2alpha on AI pregnancy rates in a 5day, progesterone-based, CO-Synch protocol in crossbred beef heifers. Theriogenology 75: 1536-1542
- Pitaluga S.F., Sá Filho M.F., Sales N.S., Baruselli P.S. and Vicenti L. 2013. Manipulation of the proestrous by exogenous gonadotropin and estradiol during a timed artificial insemination protocol in suckled *Bos indicus* beef cows. Livestock Science 154: 229-234.
- Quinteros O.R. 2009. La Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF), con el protocolo Crestar (Norgestomet Valerato de Estradiol)-Folligon (eCG)- Fertagil (Gonadorelin), como una alternativa reproductiva en la ganadería del centro de la Amazonia Ecuatoriana. VII Seminario de Actualización Veterinaria de la Universidad de Ciencias Comerciales de Managua. Nicaragua. pp 5.
- Quinteros R., Vargas J.C. and Marini P.R. 2016. Reproductive parameters of different dairy cattle genotypes in the ecuadorian amazon. Revista Spermova. 6 (1): 55 92.
- Quinteros R. and Marini P.R. 2017. Evaluación productiva y reproductiva de cuatro genotipos lecheros en pastoreo libre en la Amazonía Ecuatoriana. Rev Vet 28: (1):9-13.
- Ré M., de la Mata J. and Bó G. 2014. Synchronization of ovulation in dairy heifers using a shortened estradiol-based protocol that provides for a lengthened proestrus. Reprod. Fert. and Develop. 26:118 (abstract).
- Ribeiro E.S., Monteiro A.P., Lima F.S., Ayres H., Bisinotto R.S. and Favoreto. 2012. Effects of presynchronization and length of proestrus on fertility of grazing dairy cows subjected to a 5 day timed artificial insemination protocol. J Dairy Sci. 95:2513 2522.
- Rabaglino M.B., Risco C., Thatcher M.J., Kim I.H., Santos J.E. and Thatcher, W.W. 2010. Application of one injection of prostaglandin F(2alpha) in the five-day

- CoSynch+CIDR protocol for estrous synchronization and resynchronization of dairy heifers. J. Dairy Sci. 93: 1050-1058.
- Saake R.G., Nadir S. and Nebel R.L. 1994. Relationship of semen quality to sperm transport, fertilization, and embryo quality in ruminants. Theriogenology 41: 45-50.
- Sá Filho M.F., Santos J.E.P., Ferreira R.M., Sales J.N.S. and Baruselli P.S. 2011. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled Bos indicus cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. Theriogenology 76: 455465.
- Sales J.N., Carvalho J.B., Crepaldi G.A., Cipriano R.S., Jacomini J.O., Maio J.R., Souza J.C., Nogueira G.P. and 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 78:510-516.
- Santos J.E.P., Narciso C.D., Rivera F., Thatcher W.W. and Chebel R.C. 2010. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. Journal of Dairy Science 93: 2976-2988.
- Sartori R., Fricke P.M., Ferreira J.C.P., Ginther O.J. and Wiltbank. 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. Biology of Reproduction 65: 1403-1409.
- Sartori R., Haughian J.M., Shaver R.D., Rosa G.J.M. and Wiltbank M.C. 2004. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. Journal of Dairy Science 87 905 920.
- Stocco, C., 2012. The long and short of the prolactin receptor: the corpus luteum needs them both! Biol. Reprod. 86, 85.
- Tríbulo H., Bardón, J., Combessies G. y Martínez A. 2006. Manej reproductivos en rodeos de carne. Instituto de reproducción animal de Córdoba, IRAC, Argentina. Primera edición. Octubre 17, 2006. 236 pp.
- Trimberger G.W. 1948. Breeding efficiency in dairy cattle from artificial insemination at various intervals before and after ovulation. Nebraska Agric. Exp. Stn. Res. Bull. 153: 1-26.
- Uslenghi G., González Chavez S., Cabodevila J. and Callejas S. 2014. Effect of estradiol cypionate and amount of progesterone in the intravaginal device on synchronization of estrus, ovulation and on pregnancy rate in beef cows treated with FTAI based protocols. Animal Reproduction Science 145: 1-7.

- van Eerdenburg F.J.C.M., Karthaus D., Taverne M.A.M., Merics I. nad Szenci O. 2002. The relationship between estrus behavioral score and time of ovulation in dairy cattle. J Dairy Sci, 85:1150–1156.
- Vasconcelos J.L.M., Sartori R., Oliveira H.N., Guenther J.G. and Wiltbank M.C. 2001. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. Theriogenology 56: 307-314.
- Wilmut I., Moller A.N. 1984. Sperm transport into the oviducts of heifers mate dearly in estrus. Reprod Nutr Dev; p. 24:261.
- Whittier W.D., Currin J.F., Schramm H., Holland S. and Kasimanickam R.K. 2013. Fertility in Angus cross beef cows following 5-day CO-Synch + CIDR or 7-day CO-Synch + CIDR estrus synchronization and timed artificial insemination. Theriogenology 80: 963 969.
- Yánez D., Barbona I., López J.C., Moyano J.C., Quinteros R., Bernardi S. y Marini, P.R. 2016. Possible factors affecting pregnancy rate of cows in the amazon ecuatorian. Proceedings, VI Peruvian Congress Animal Reproduction, pp 66.

# **ANEXOS**

# Ubicación de la investigación



#### **Tratamientos:**





## **EVALUACION DE LOS ANIMALES**



## ULTRASONOGRAFIAS



