



unl

Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Maestría en Reproducción Animal, Mención en Rumiantes

Efecto de la adición de eCG pos protocolos de IATF con proestro prolongado sobre la tasa de preñez y caracterización folicular en vacas de la Amazonía Ecuatoriana.

Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de Maestría en Reproducción Animal con Mención en Rumiantes

AUTOR:

Tito Laban Vargas Fernandez

DIRECTOR:

Dr., Edgar Lenin Aguirre Riofrio. PhD.

Loja - Ecuador

2023

Certificación

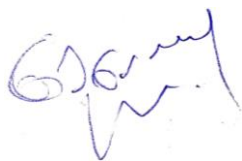
Loja, 22 de noviembre de 2022

Dr. Edgar Lenin Aguirre Riofrio. PhD.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TIULACION

C E R T I F I C O:

Que he revisado y orientado todo el proceso de la elaboración del Trabajo de Titulación denominado: **Efecto de la adición de eCG pos protocolos de IATF con proestro prolongado sobre la tasa de preñez y caracterización folicular en vacas de la Amazonía Ecuatoriana**, previo a la obtención del título **Master en Reproducción Animal con mención en Rumiantes**, de la autoría del estudiante **Vargas Fernandez Tito Laban** , con **cédula de identidad Nro.1600684391**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa.



Dr. Edgar Lenin Aguirre Riofrio, PhD.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACION

Autoría

Yo, **Tito Laban Vargas Fernández**, declaro ser autor del presente Trabajo de Titulación y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Titulación, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma:



Cédula de identidad: 1600684391

Fecha: 16 de noviembre del 2023

Correo electrónico: tito.vargas@unl.edu.ec

Teléfono: 0995703885

Carta de autorización por parte del autor, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Titulación.

Yo, **Tito Labal Vargas Fernandez**, declaro ser autor del Trabajo de Titulación denominado: **Efecto de la adición de eCG en protocolos de IATF pos proestro prolongado sobre la tasa de preñez y caracterización folicular en vacas de la Amazonía ecuatoriana**, como requisito para optar por el título de **Master en Reproducción Animal con mención en Rumiantes**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los diesiseis días del mes de noviembre del dos mil veintitrés.

Firma:



Autor/a: VARGAS FERNANDEZ TITO LABAN.

Cédula: 160068439-1

Dirección: Puyo-Pastaza

Correo electrónico: tito.vargas@unl.edu.ec

Teléfono: 0995703885

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Director del Trabajo de Titulación: Dr., Edgar Lenin Aguirre Riofrio. PhD.

Dedicatoria.

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mi madre, por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional sin importar nuestras diferencias de opiniones. A mi padre, a pesar de nuestra distancia física, siento que estás conmigo siempre y aunque nos faltaron muchas cosas por vivir juntos, sé que este momento hubiera sido tan especial para ti como lo es para mí. A mi hermano y hermanas y a mi novia, por compartir momentos significativos conmigo y por siempre estar dispuestos a escucharme y ayudarme en cualquier momento.

Tito Laban Vargas Fernández

Agradecimiento

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado fortaleza para continuar cuando he querido desistir; por ello, con toda la humildad que de mi corazón puede emanar, dedico primeramente mi trabajo a Dios.

De igual forma, dedico esta tesis a mi madre que ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles.

A mi hermano y hermanas que siempre han estado junto a mí y brindándome su apoyo, muchas veces poniéndose en el papel de padres.

Al hombre que me dio la vida, el cual a pesar de la distancia me ha enseñado a ser perseverante.

A mi familia en general, porque me han brindado su apoyo incondicional y por compartir conmigo buenos y malos momentos.

A mi Director y todos los profesionales Docentes y compañeros que formaron parte de este proyecto, por haber brindado su apoyo, y conocimientos ya que hicieron de esta experiencia una de las más gratas.

Tito Laban Vargas Fernández

Índice de Contenido

Portada	i
Autoría	iii
Carta de autorización	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de Contenido	vii
Índice de tablas	ix
Índice de figuras	x
Índice de anexos	xi
1. Título	1
2. Resumen	2
2.1 Abstract	3
3. Introducción	4
4. Marco Teórico	6
4.1. La Inseminación Artificial (IA)	6
4.2. Fisiología del ciclo estral en la hembra bovina	6
4.3. Impacto y uso de los programas de inseminación artificial a tiempo fijo en la Amazonía Ecuatoriana	7
4.4. Prolongación del proestro	8
4.5. Programa Co-Synch de 5 días.....	9
4.6. J-Synch	10
4.7. Uso de la eCG en protocolos de IATF	12
5. Metodología	17
5.1. Lugar de ejecución y periodo de duración	17
5.2. Descripción del material experimental	17

5.3. Variables de estudio	18
5.4. Tratamientos a aplicar en los animales	18
5.5. Toma de muestras	20
5.6. Análisis de la información.....	21
6. Resultados.	23
6.1. Tasa de preñez	23
6.2. Expresión de celo vs porcentaje de preñez en los tratamientos analizados	23
7. Discusión	25
8. Conclusiones.....	29
9. Recomendaciones.....	30
10. Bibliografía.....	31
11. Anexos	40

Índice de tablas

Tabla 1 Caracterización de las Variables.....	18
Tabla 2 Tasas de preñez obtenida en los protocolos J-Synch+eCG y J-Synch+eCG al día 14.....	23
Tabla 3 Tasa de preñez en relación a la presencia de celo en cada tratamiento	23
Tabla 4 Tasa de preñez, tamaño CL y concentraciones séricas de P4 al día 14 y 30 pos IATF en vacas de la Amazonia sometidas al tratamiento J-Synch.....	24
Tabla 5 Estatus ovárico de los animales en los tratamientos analizados y su relación con la preñez.....	24

Índice de figuras

Figura 1 Esquema del Tratamiento 1: J-Synch + eCG	19
Figura 2 Esquema del Tratamiento 2: J-Synch + 2 dosis de eCG.....	20

Índice de anexos

Anexo 1. Inicio de protocolos de sincronización en vacas.....	40
Anexo 2. Retiro de implantes.	40
Anexo 3. Inseminación.....	40
Anexo 4. Adición de la segunda dosis de eCG.....	41
Anexo 5. Toma de muestra de sangre	41
Anexo 6. Ultrasonografía	41
Anexo 7. Análisis de muestras de progesterona en sangre.....	42
Anexo 8. Análisis de concentraciones serias de P4.	42
Anexo 9. Certificación de abstrac	42

1. Título

Efecto de la adición de eCG pos protocolos de IATF con proestro prolongado sobre la tasa de preñez y caracterización folicular en vacas de la Amazonía Ecuatoriana.

2. Resumen

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la adición de dos dosis de eCG en protocolos de IATF, sobre la tasa de preñez y concentración plasmática de progesterona en vacas de la Amazonía Ecuatoriana. El trabajo se efectuó en la provincia de Pastaza, se utilizaron 107 vacas en producción con cría al pie, de las razas Holstein, Pardo Suizo y sus cruza (*Bos indicus*). Para la sincronización de celos se utilizó dos tratamientos: T1: J-Synch +eCG (n=52) y T2: J-Synch + dos dosis de eCG (n=55). La tasa de preñez fue del 53,8% (T1), y 58,2%, (T2), sin mostrar diferencia significativa. Al igual que en las vacas que manifestaron celo (56,6%), a comparación de las que no manifestaron celo (54,8%). ($P>0,05$). Pero en vacas que no presentaron celo, se observó mayor porcentaje de preñez en el T2 (62,5%) mostrando diferencia significativa ($P<0,05$). Los niveles plasmáticos de progesterona (P4), en el T1 y T2, evaluado el día 14: (8,4 ng/dL); (9,6 ng/dL) respectivamente, no difieren significativamente, al igual que al día 30: T1 (10,2 ng/dL) y T2 (10,6 ng/dL), ($P>0,05$). El desarrollo folicular y el diámetro del cuerpo lúteo no mostraron diferencias significativas, al igual que el diámetro del CL medido al día 14 ($20,7 \pm 5,0$ mm) y al día 30 ($22,2 \pm 2,5$ mm), ($P>0,05$). No existió interacción entre la tasa de preñez, el diámetro del CL y la concentración sérica de P4, en vacas de los tratamientos que fueron evaluados, ($P>0,05$). En conclusión la adición de una segunda dosis de eCG al día 14 en protocolos J – Synch no aumentó la tasa de preñez estadísticamente, pero resultó numéricamente mayor al igual que la concentración de P4 en la fase luteal posterior a la IATF.

Palabras clave: IATF, eCG, progesterona, preñez, Amazonía

2.1 Abstract

This paper was aimed to evaluate the effect of the addition of two eCG in IATF protocols doses on the pregnancy rate and plasma concentration of progesterone in cows from the Ecuadorian Amazon region. The analysis was executed in the province of Pastaza, where 107 Holstein, Swiss Brown breeds and their crossbreeds (*Bos indicus*) cows were used in production with breeding at the foot. For the synchronization of the animals' heat two treatments were used: T1: J-Synch +eCG (n=52) and T2: J-Synch + two doses of eCG (n=55). The pregnancy rate was 53.8% (T1), and 58.2% (T2), without showing a significant difference. As in the cows that came into heat (56.6%), compared to those that did not come into heat (54.8%). ($P>0.05$). But in cows that did not come into heat, a higher percentage of pregnancy was observed in T2 (62.5%), showing a significant difference ($P<0.05$). Plasma progesterone levels (P4), at T1 and T2, assessed at day 14: (8.4 ng/dL); (9.6 ng/dL) respectively, did not differ significantly, as did at day 30: T1 (10.2 ng/dL) and T2 (10.6 ng/dL), ($P>0.05$). Follicular development and corpus luteum diameter showed no significant differences, as did CL diameter measured at day 14 (20.7 ± 5.0 mm) and day 30 (22.2 ± 2.5 mm), ($P>0.05$). There was no interaction between the pregnancy rate, the diameter of the CL and the serum concentration of P4, in cows of the treatments that were evaluated, ($P>0.05$). In conclusion, the addition of a second dose of eCG on day 14 in protocols J – Synch did not increase the pregnancy rate statistically, but it was numerically higher as was the concentration of P4 in the luteal phase after the IATF.

Keywords: IATF, eCG, progesterone, pregnancy, Amazon Region

3. Introducción

Los sistemas de explotación ganadera doble propósito que combina la producción de carne y leche con cruces entre bovinos *Bos taurus* y *Bos indicus*, se determinan como un programa de producción tradicional en regiones tropicales (Arce *et al.*, 2017). En la amazonia ecuatoriana elementos que afectan la reproducción bovina son: el clima tropical con elevadas temperaturas en combinación con la humedad, factores fisiológicos, intervalo entre partos prolongados, fallas en la detección de celos, desbalances hormonales, dietas y un incorrecto manejo zootécnico (López *et al.*, 2017). Una elección para optimizar estos resultados negativos sobre la reproducción, es el emplear programas de manejo hormonal para aplicarlos en la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), esta técnica brinda la posibilidad de sincronizar el celo y la ovulación en el ganado bovino por medio del uso de hormonas (Raso, 2012).

La IATF tiene como objetivo inseminar un grupo de vacas sin ser necesario el detectar los celos, logrando inseminar en un día y hora determinado, de igual forma logra inducir el ciclo en vacas en anestro, resultando en un aumento en la eficacia reproductiva (Marizancén *et al.*, 2017). En los últimos tiempos el protocolo denominado J –Synch ha sufrido algunas variaciones, sin alterar su forma inicial como es: una dosis de BE i.m. y la inserción de un dispositivo intravaginal de 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 h después de la remoción del dispositivo junto con la IATF garantizando un proestro prolongado (de la Mata *et al.*, 2012).

En la provincia de Napo (Amazonia de Ecuador), López *et al.* (2017), analizaron tres tratamientos, dos convencionales con diferentes sales de estradiol (BE n=100 y CPE n=100) y uno denominado J- Synch; (n=101), el cual al día 0 se aplicó 2mg BE + DIB 0,5g; día 6 se retiró dispositivo + PGF2 α ; día 9 se aplicó 100 μ g GnRH (72 h) e IATF. Se utilizaron vacas multíparas Brown Swiss doble propósito con cría al pie con estado corporal > 2,5, con \leq 90 y > 120 días de intervalo de días abiertos desde octubre de 2015 a abril de 2016. En este trabajo se encontró que el protocolo J-Synch resultó tener un folículo de mayor diámetro al momento de la IATF (13,5 \pm 0,1mm) que en los otros dos tratamientos (12,4 \pm 0,1 y 12,9 \pm 0,1mm, respectivamente; P<0,05) y tuvo un CL que

alcanzó una media mayor ($25,4\pm 0,2$ mm de diámetro) a los 7 días posterior a la IATF que los tratamientos CPE y BE ($24,2\pm 0,2$ y $24,5\pm 0,2$ mm; $P<0,05$) respectivamente. Además, las concentraciones séricas de progesterona en sangre fueron más altas ($11,4\pm 0,3$ ng/ml) en los animales del tratamiento J-Synch que en los tratamientos CPE 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 del (59%) numéricamente mayor que los otros dos tratamientos (53% y 51%, respectivamente), sin que existieran diferencias significativas ($P>0,05$).

La eCG por sus características de tiempo de vida media larga posee un efecto equivalente a la FSH y LH en el folículo, logrando favorecer el crecimiento y maduración de los folículos y la ovulación (Vera, 2017). Así también puede fijarse a los receptores de LH del cuerpo lúteo, alcanzando un incremento de células lúteas, las cuales se encargan de la síntesis de alrededor del 80% de la P4, brindando más volumen y más capacidad de producción de P4 (Mello *et al.*, 2014). La progesterona es fundamental para la supervivencia y desarrollo embrionario, al igual que la identificación de la preñez, asociando esto a un aumento en la tasa de desarrollo del embrión (Butler *et al.*, 2016).

Tomando en cuenta los diferentes factores que afectan la parte reproductiva en la región de la Amazonia Ecuatoriana, los ganaderos del sitio están en la necesidad de mejorar estos índices reproductivos en sus hatos ganaderos, esto mediante la aplicación de nuevas biotecnologías para el manejo reproductivo, buscando mejorar esa eficiencia reproductiva, para lo cual el presente trabajo de investigación planteó el siguiente objetivo general: Evaluar el efecto de la adición de eCG al día 14 pos protocolos de IATF con proestro prolongado en vacas de la Amazonia Ecuatoriana, y como específicos: .

- Comparar las tasas de preñez de los protocolos J-Synch con eCG, más la adición de eCG al día 14 pos IATF en condiciones de la Amazonía Ecuatoriana.
- Estudiar la concentración de progesterona al día 14 y 30 durante el periodo temprano de la gestación en vacas que recibieron eCG al día 14 pos IATF en los protocolos J-Synch con eCG.
- Evaluar el estatus ovárico al día cero, crecimiento folicular al inicio y al final del proestro y el tamaño del cuerpo lúteo en vacas tratadas con los protocolos J-Synch con eCG.

4. Marco Teórico

4.1. La Inseminación Artificial (IA)

Es una de las técnicas más importantes y efectivas para el mejoramiento genético-productivo de los bovinos (Cutaia *et al.*, 2003). Sin embargo, la necesidad de detectar el celo para realizar la IA, complica su practicidad, requiriendo una significativa inversión en tiempo y recursos humanos, con frecuentes errores, comprometiendo la eficiencia de la misma (Bó *et al.*, 2002), para solventar estos problemas surgió la sincronización del ciclo estral de los animales, sin tener en cuenta el día en que se encuentren. Al finalizar el tratamiento, es posible realizar una IA en un número elevado de animales en un breve lapso de tiempo.

4.2. Fisiología del ciclo estral en la hembra bovina

La duración del ciclo estral en los bovinos se ubica alrededor de 17 a 25 días y está regulado por el eje hipotálamo – hipófisis – ovario – útero (Callejas, 2004). A su vez, está influenciado por la cantidad de ondas foliculares. La mayoría de las hembras bovinas tienen entre 2 y 3 (Savio *et al.*, 1988), pudiendo variar por la edad y la raza (Ginther *et al.*, 1989; Bó *et al.*, 2003), donde las razas indicas pueden tener hasta 4 ondas (Bó *et al.*, 2003; Sartori *et al.*, 2004). Las diferentes fases del desarrollo folicular (emergencia, selección, desviación, dominancia y ovulación; ésta última sólo para el folículo de la última onda del ciclo) están dirigidas por gonadotrofinas y otras hormonas provenientes de la adenohipófisis.

El ciclo estral por su parte, posee cuatro etapas bien definidas (Peter *et al.*, 2009), aunque permiten agruparlas en dos más significativas: la fase folicular, siendo la más corta y que incluye el proestro (aproximadamente 2 días de duración) y el estro variando entre 2 y 24 h de duración (Callejas, 2004); y la fase luteal, que prosigue a la anterior y es de mayor duración e incluye el metaestro (correspondiente a los primeros 5 días pos-ovulación) y al diestro (aproximadamente 13 días de duración). Inmediatamente luego de la ovulación, comienza la primera de las dos etapas del ciclo estral que encierra la fase luteal, el metaestro. Durante la misma, se luteinizan las células que formaban el folículo dominante ovulado, para dar formación al cuerpo lúteo (CL). Al cabo del 5° día, se encuentra un CL maduro que produce niveles crecientes de progesterona (P4), dando inicio a la etapa del

diestro (Peter *et al.*, 2009). Con el inicio de la regresión del CL funcional, del ciclo estral en curso, comienza la fase folicular, siendo el proestro la primera de las dos etapas que la conforman. El proestro se caracteriza con un creciente nivel de estradiol (E2) circulante en sangre, proveniente del folículo que a esas alturas ya ejerce su dominancia, y un bajo nivel de P4. Finalmente, sobreviene la segunda etapa de la fase folicular y última del ciclo estral, el estro. Caracterizado por un muy elevado nivel circulante de E2, que dispara el comportamiento de celo del animal, y finaliza con la ovulación del folículo dominante (Peter *et al.*, 2009), el cual ocurre en el día 1 del metaestro.

4.3. Impacto y uso de los programas de inseminación artificial a tiempo fijo en la Amazonía Ecuatoriana

En la Amazonía Ecuatoriana, se ha venido utilizando protocolos convencionales, que consiste en administrar 2 mg de BE por vía intramuscular (i.m.) junto con la inserción de un 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 i.m. 24 h más tarde (Bó *et al.*, 2001). El tratamiento con Cipionato de Estradiol (CPE) 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.*, 2014b), además, 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). Existen diferentes estrategias de uso del E2 al finalizar un protocolo de IATF, las mismas combinan diferentes sales de E2 con diferentes dosis y en diferentes momentos (Callejas, 2005; Bó *et al.*, 2013).

Cuando se administra 1 mg de BE a las 24 h desde el retiro del DISP con 1,9 g P4, Martínez *et al.* (2005) reportan un intervalo (retiro DISP-ovulación) de $77,3 \pm 1,9$ h en vaquillonas carniceras, en tanto que Ré *et al.* (2013) reportan $82,7 \pm 3,1$ h en vaquillonas para leche. El cipionato de estradiol (CPE) es generalmente utilizado al mismo momento del retiro de los DISP, Rodríguez Pérsico *et al.* (2015) indican un intervalo hasta la ovulación de $65,3 \pm 12,3$ h cuando se administraron 0,5 mg de CPE en vaquillonas para carne, mientras que Colazo *et al.* (2003) utilizando la misma dosis de CPE al retiro o a las 24 h, obtuvieron un intervalo de $81,6 \pm 5,0$ h y $86,4 \pm 3,5$ h hasta la ovulación. En un estudio realizado en vacas carniceras no lactantes que comparan ambos ésteres de E2,

benzoato de estradiol (BE) y CPE, Uslenghi *et al.* (2014) reportan un intervalo retiro DISP-ovulación de $65,4 \pm 2,3$ h al utilizar 1 mg de BE a las 24 h desde el retiro del DISP y $66,0 \pm 3,3$ h cuando se aplicó 1 mg de CPE junto con el retiro del DISP.

4.4. Prolongación del proestro

Bridges *et al.* (2010) reportaron resultados sobre el efecto de alargar el proestro utilizando protocolos Co-Synch, en donde un proestro largo (2,25 días) versus uno corto (1,25 días) no tuvo efecto significativo sobre el diámetro folicular preovulatorio, pero aumentó significativamente la preñez (50% versus 26%, respectivamente) en vacas de cría secas y en lactancia. Incluso en otro experimento similar, un proestro largo (2,2 días) versus uno corto (1,2 días) nuevamente no generó diferencias en cuanto a diámetro folicular, pero aumento significativamente ($P < 0,05$) la concentración de E2 durante ese proestro (Bridges *et al.*, 2010). Lo mismo había sido observado un tiempo antes, en vacas de 2° servicio, en donde fue evaluado el efecto de acortar la permanencia del DISP y la prolongación del proestro, resultando en iguales diámetros foliculares, pero tendiendo ($P = 0,06$) a producir mayores concentraciones de E2 a favor del protocolo Co-Synch de 5 días (Bridges *et al.*, 2010). El acortar el proestro (de 2 días a 1 día) disminuyó la tasa de preñez en vacas y vaquillonas de cría posparto (Dadarwal *et al.*, 2013). En éste mismo sentido, Colazo *et al.*, (2011) describen que sería posible predecir en un 80,1% la probabilidad de preñez cuando el proestro tiene una duración de 72 h, mientras que la misma cae cuando el proestro tiene una duración diferente, en más o en menos tiempo.

La mayor capacidad de producir E2 por parte del folículo dominante en crecimiento se da al 4° día de la emergencia de la onda (Valdez *et al.*, 2005) cuando la misma es inducida con GnRH. En este mismo sentido, Bridges *et al.* (2008) postula que reduciendo la permanencia del DISP de 7 a 5 días, los folículos tendrán aproximadamente 3 a 4 días, en lugar de 5 a 6 días, desde la emergencia de la onda, al momento en que se induzca la regresión del CL y el retiro del DISP. Esto es complementado por lo informado por Dadarwal *et al.* (2013) en donde determinó que un menor nivel de P4 durante el desarrollo folicular conlleva a un mayor diámetro folicular al momento de la IATF y mayor tamaño y funcionalidad del CL posterior, en cuanto a la producción de P4. Esto posiblemente se deba también a que un elevado nivel de P4 retrasa el reclutamiento folicular (Echternkamp *et al.*, 2011). Los programas de IATF que buscan incrementar la duración

del proestro, influyen sobre la capacidad esteroidogénica del folículo y sobre el ambiente uterino, aumentando las concentraciones séricas de E2 al momento del estro y de P4 durante la fase luteínica posterior. Altas concentraciones de E2 al momento de la IATF fueron asociadas a altas tasa de preñez (Jinks *et al.*, 2012). Del mismo modo, Atkins *et al.* (2013) informan sobre la asociación positiva entre la concentración de E2 a la IATF y las concentraciones séricas de P4 al día 7, siendo al mismo tiempo independiente del tamaño del folículo ovulatorio. En un estudio realizado en vacas, Mann *et al.* (2000), Detalla que un bajo nivel de E2 durante la fase folicular podría resultar en una reducción de la inhibición de la concentración de los receptores de oxitocina en el CL. Consecuentemente, mayor cantidad de oxitocina se uniría a dichos receptores, dando lugar a episodios luteolítico mediados por PGF2 α desde el útero, resultando en una luteólisis prematura del CL responsable del mantenimiento de la gestación. Por otra parte, en un antiguo estudio realizado en ovejas, Miller *et al.* (1977) determinaron que aquellas hembras que no recibieron suplementación de E2, tuvieron menos probabilidad de mantener los embriones, vieron reducido el peso de su útero y también la cantidad de proteínas intraluminales al día 21. En esta misma línea, en un reciente estudio realizado en vacas, Madsen *et al.* (2015) realizaron un trabajo que tuvo como objetivo estudiar el rol del E2 preovulatorio sobre la supervivencia de embriones y el mantenimiento de la gestación, a fin de evitar el efecto del diámetro folicular, la secreción endógena de E2, el largo del proestro y la consecuente P4, fueron utilizadas hembras castradas a las que se les transfirieron embriones de excelente calidad al día 7, el diagnóstico de gestación por ultrasonografía (US) al día 29 reveló tasas de preñez de 21%, 29% y 4% para los tratamientos con CPE, BE o sin E2, respectivamente. Cuando los grupos con E2 fueron agrupados y comparados con el grupo sin E2, aquellos animales que recibieron la mímica del E2 preovulatorio tuvieron mayor probabilidad de mantener la gestación al día 29 (P<0,05).

4.5. Programa Co-Synch de 5 días

Sobre una modificación realizada al protocolo original Co-Synch, Bridges *et al.* (2008) informaron un incremento del 10,5% en la tasa de preñez en vacas carniceras con cría, al acortar de 7 a 5 días la permanencia del DISP, y alargar el proestro hasta 72 horas, momento en que se realiza la IATF en conjunto con la administración de GnRH, eeste

protocolo fue denominado Co-Synch 5 días + DISP (5D Co-Synch). La propuesta original (Bridges *et al.*, 2008) considera la aplicación de dos dosis de PG para lisar el CL original más el inducido por la 1° GnRH, en aquellas hembras que responden a la misma. El esquema planteado fue la administración de la 1° dosis al retiro del DISP y la 2° a las 12 horas, la necesidad de la doble dosis, así como la estrategia de la aplicación, fueron motivo de estudio. Los resultados en vacas indican que es necesario administrar la doble dosis, ya sea juntas (al retiro del DISP) o separadas (8 horas), según lo reportado por Bridges *et al.* (2012), sin embargo, Rabaglino *et al.* (2010) concluyó que una dosis de PG es suficiente para regresar los CL y obtener un aceptable porcentaje de preñez en vaquillonas, aspecto que fue corroborado también por de la Mata y Bó. (2012).

Este protocolo fue replicado en diversas categorías de hembras bovinas, vacas y vaquillonas, secas y en lactancias, con resultados varios, así vacas de cría en lactancia se informaron resultados de preñez a la IATF del 51,0%, 70,4% y 58,1% (Bridges *et al.* 2008, 2012; Whittier *et al.* 2013, respectivamente); en vaquillonas carniceras del 52,9% (Kasimanickam *et al.* 2014), 55,9% al 62,5% (Perry *et al.* 2012) y para vaquillonas tipo leche del 48,6% al 59,4% (Rabaglino *et al.* 2010). Particularmente el estudio de Perry *et al.* (2012) describe que los mejores resultados se obtienen cuando las vaquillonas estaban cíclicas.

4.6. J-Synch

De la Mata y Bó. (2012), Denominaron J-Synch al protocolo consistente en la administración de BE junto con un DISP para la sincronización de una nueva onda folicular, al cabo de 6 días, el DISP es retirado junto con la aplicación de PG, dando inicio al proestro, el cual tendrá una duración de 72 h, cuando se realizará la IATF en conjunto con la inducción de la ovulación mediante una dosis de GnRH. A diferencia del protocolo 5D Co-Synch que inicia con una GnRH, el protocolo J-Synch al iniciar con BE no genera un CL secundario, por lo que sólo es necesaria la aplicación de una dosis de PG al retirar los DISP (Rabaglino *et al.* 2010; De la Mata y Bó. 2012). Estos últimos autores compararon en vaquillonas carniceras la sincronización de la emergencia de una nueva onda folicular mediante GnRH (5D Co-Synch) o BE (J-Synch), dejando en ambos protocolos un proestro de 72 horas, la sincronización de la ovulación fue realizada con GnRH al momento de la inseminación, en ambos grupos, no hubo diferencias

significativas entre los protocolos J-Synch y 5D Co-Synch ($P > 0,1$) en cuanto a la tasa de ovulación (91,6% vs 92,8%), intervalo entre el retiro DISP - ovulación ($97,1 \pm 17,4$ h vs $95,1 \pm 12,5$ h), diámetro de folículo dominante preovulatorio ($11,7 \pm 0,2$ vs $12,0 \pm 0,5$ mm), tasa de preñez (50% vs 57%).

En la región, pero sobre todo en Argentina se han realizado varios estudios que apuntaron a evaluar la eficacia del J-Synch para mejorar las tasas de preñez en programas de IATF, así en un estudio realizado en vaquillonas lecheras y comparando además con un protocolo convencional (7 días de DISP con BE a las 24 h), Ré *et al.* (2013) informaron resultados similares a los descritos previamente. El intervalo entre el retiro DISP – ovulación fue menor para el convencional ($82,7 \pm 3,1$ h) que para los protocolos J-Synch ($103,8 \pm 3,3$ h) y 5D Co-Synch ($96,8 \pm 3,3$ h), mientras que la tasa de preñez difirió numéricamente, pero no estadísticamente (53,4%, 62,7% y 54,5%, respectivamente). Por otro lado, Bó *et al.* (2016) informan en un primer estudio, una mejora significativa en la tasa de preñez de 10,5% cuando el J-Synch fue comparado con un protocolo convencional (basado en E2 y DISP) al cabo de varias réplicas, involucrando 791 vaquillonas para carne. En un segundo estudio informan, sobre 2349 vaquillonas, todas tratadas además con 300 UI de eCG, una diferencia significativa en la tasa de preñez a favor del J-Synch de 5,4% (56,1% vs 50,7%). En ese mismo sentido, Villa *et al.* (2017) obtuvieron una tasa de preñez de 55% y 48,3% (J-Synch vs Convencional, respectivamente), en vaquillonas con buen desarrollo reproductivo y alta tasa de ciclicidad, sin llegar a diferenciarse significativamente.

Como conclusión, diremos que existe una gran cantidad de programas de IATF, ajustados a todas las categorías (vacas y vaquillonas, de razas carniceras y lecheras, de origen índico, taurino o sus cruza) y que son ampliamente utilizados para la producción bovina en toda la región (Binelli *et al.* 2014; Bó *et al.* 2013; Colazo y Mapletoft, 2014).

En la provincia de Napo (Amazonia de Ecuador), López *et al.* (2017), analizaron tres tratamientos, dos convencionales con diferentes sales de estradiol (BE $n=100$ y CPE $n=100$) y uno denominado J- Synch; ($n=101$), el cual al día 0 se aplicó 2mg BE + DIB 0,5g, día 6 se retiró dispositivo + PGF2 α , día 9 se aplicó 100 μ g GnRH (72 h) e IATF, para ello se utilizaron vacas multíparas Brown Swiss doble propósito con cría al pie con estado corporal $> 2,5$ y con ≤ 90 y > 120 días de intervalo de días abiertos desde octubre de 2015 a abril de 2016. En este trabajo se encontró que el protocolo J-Synch resultó tener

un folículo de mayor diámetro al momento de la IATF ($13,5\pm 0,1\text{mm}$) que en los otros dos tratamientos ($12,4\pm 0,1$ y $12,9\pm 0,1\text{mm}$, respectivamente; $P<0,05$) y tuvo un CL que alcanzó una media mayor ($25,4\pm 0,2\text{mm}$ de diámetro) a los 7 días posterior a la IATF que los tratamientos CPE y BE ($24,2\pm 0,2$ y $24,5\pm 0,2\text{mm}$; $P<0,05$) respectivamente, además, las concentraciones séricas de progesterona en sangre fueron más altas ($11,4\pm 0,3\text{ng/mL}$) en los animales del tratamiento J-Synch que en los tratamientos CPE y BE ($10,6\pm 0,3$ y $9,9\pm 0,3\text{ng/mL}$, respectivamente; $P<0,05$) y en cuanto a la tasa de preñez, el protocolo J-Synch tuvo una preñez del (59%) numéricamente mayor que los otros dos tratamientos (53% y 51%, respectivamente), sin que existieran diferencias significativas ($P>0,05$). Cedeño *et al.* (2019) compararon la dinámica folicular y luteal de un tratamiento alternativo de prolongación de proestro J-Synch de 7 días de progesterona en vaquillonas *Bos indicus* para carne que recibieron IATF en la Provincia de Manabí – San Vicente, concluyendo que la extensión de un día más de progesterona en el tratamiento J-Synch 7 días no altera las características del folículo dominante ovulatorio y el momento de ovulación con relación al protocolo J-Synch de 6 días, aunque en ambos protocolos de proestro prolongado, el intervalo a la ovulación es mayor que en los animales tratados con el protocolo convencional con CPE como inductor de la ovulación.

4.7. Uso de la eCG en protocolos de IATF

La eCG está compuesta por dos subunidades (α -compuesta por 96 aminoácidos y β -compuesta por 149 aminoácidos). Una característica importante de la molécula de eCG es la existencia de grandes cantidades de carbohidratos (aproximadamente 45% de su masa) principalmente N-acetil neuramina (o ácido siálico), primordialmente presente en la subunidad β de la molécula de eCG, lo que proporciona una gran vida media a este compuesto químico (Murphy *et al.* 1991). Debido al alto peso molecular y la presencia de ácido siálico, la molécula de eCG posee carga negativa, lo que dificulta su filtración glomerular y aumenta aún más su vida media, por todos estos factores, la vida media de la eCG cuando es aplicada en bovino es larga (Souza *et al.* 2008).

La eCG es secretada por las copas endometriales de yeguas gestantes formadas como resultado de la adherencia del concepto al endometrio materno alrededor del día 40 de gestación, persistiendo hasta el día 120 (Allen, 2001), esta hormona expresa una acción biológica de FSH y LH (Steward *et al.* 1976). En la yegua, la eCG tiene primariamente

un efecto luteotrófico y a medida que las copas endometriales crecen y aumentan la concentración de eCG, induce la ovulación de los folículos de mayor tamaño, generando CL accesorios y aumentando el nivel de progesterona (P₄). Además de su efecto luteotrófico, la eCG posee efecto FSH cuando es usada en otras especies, utilizándose para inducir superovulación en bovinos, ovinos y conejos (Hafez *et al.* 2000; Baruselli *et al.* 2008; Bó y Mapletoft, 2014).

Cuando la eCG es administrada en vacas en anestro crea condiciones para estimular el crecimiento folicular y la ovulación, incluso en vacas que tengan comprometida la liberación de gonadotropina. Su uso ha presentado efecto positivo en rodeos con baja tasa de ciclicidad (anestro), en animales recién paridos (período pos-parto inferior a dos meses), en animales con condición corporal comprometida ($\leq 2,5$ en la escala de 1 a 5) (Baruselli *et al.* 2004) y en animales que presentan comprometido el crecimiento del folículo dominante (Marques *et al.* 2005). Debido a su acción FSH y LH y a la larga vida media, la eCG ha sido utilizada en los protocolos de sincronización de receptoras de embriones (Baruselli *et al.* 2000). La utilización de 400 UI de eCG al momento de retirar el dispositivo de progesterona, dio como resultado un aumento en la concentración de P₄ en plasma y en las tasas de preñez en vacas con cría al pie tratadas durante el anestro post parto (Baruselli *et al.* 2004; Bó *et al.* 2007). Se ha demostrado que el tratamiento con eCG incrementa el desarrollo del folículo dominante y produce la ovulación de un folículo más grande que resulta en un CL más grande y más funcional, actuando en la supervivencia del embrión (Baruselli *et al.* 2004).

En un estudio realizado por Baruselli *et al.* (2004), Con 215 vacas Nelore paridas (75 ± 19 días posparto), se comprobó un efecto positivo de la eCG en el grado de anestro (sin CL; ya sea con folículos grandes como pequeños), hubo efecto positivo del tratamiento con eCG, en tanto que en los animales cíclicos (con presencia de CL), no se notó aumento en la tasa de concepción a la IATF, el efecto positivo de la eCG fue más evidente conforme aumentó la intensidad del anestro. Los resultados positivos de la utilización de eCG solamente en animales en anestro también fueron constatados en un estudio hecho en Argentina (Cutaia *et al.* 2003) y están también presentados y discutidos en revisiones científicas de Bó *et al.* (2003).

Baruselli *et al.* (2004), Evaluó los efectos del uso de eCG en la dinámica folicular de vacas Nelore (*Bos indicus*) en anestro y sincronizadas para IATF, se verificó que el

tratamiento con eCG al retiro del implante auricular de progestágeno aumentó el diámetro del folículo, además de aumentar la tasa de ovulación frente al grupo control (50,0% vs. 73,1%, $P=0,04$) y de concepción (20,8% vs. 46,2%, $P=0,02$). De acuerdo a Carvalho *et al.* (2008), los animales cíclicos (presencia de CL) presentan un aumento significativo en los niveles circulantes de P4 durante el tratamiento, lo que puede comprometer la pulsatilidad de la LH y el crecimiento del folículo dominante. Finalmente, en animales con buena condición corporal (> 3) no fue constatado efecto positivo de la eCG sobre la tasa de concepción, la CC está frecuentemente relacionada a la ciclicidad (D'occhio *et al.* 1990; Viscarra *et al.* 1998).

4.8. Reconocimiento materno

De acuerdo a Lenis *et al.* (2010), el reconocimiento materno embrionario bovino es uno de los eventos de mayor importancia en la reproducción, pues este proceso está regulado por múltiples señales celulares endocrinas, entre el embrión, el endometrio y el cuerpo lúteo, la cual constituye la ventana de reconocimiento materno embrionario, por ser el responsable de la producción de progesterona.

Para que la gestación se lleve a cabo, se debe establecer una relación estrecha entre el embrión en desarrollo y el ambiente materno, por lo cual durante los días 15 al 17 del ciclo estral, la viabilidad embrionaria juega un papel importante para inhibir los procesos luteolíticos, favoreciendo la implantación y el mantenimiento de la gestación, lo cual se consigue mediante la secreción del Interferón tau, el cual bloquea la síntesis de la PGF2 α (Lenis *et al.* 2010).

La exposición secuencial de progesterona antes del estro, incrementa las concentraciones de estradiol en el estro y las concentraciones suficientes de progesterona en el ciclo estral posterior son necesarias para establecer un apropiado ambiente en el útero para la supervivencia del embrión (Bridges *et al.* 2013).

Para mantener el ciclo estral y el establecimiento de un ambiente adecuado en el útero para el desarrollo del embrión, la regulación de la expresión y localización de los receptores de progesterona, estradiol y oxitocina en el endometrio del útero son obligatorios. En rumiantes preñadas, la secreción del interferón-tau por el crecimiento del embrión atenúa el incremento de la oxitocina y posteriormente previene la liberación pulsátil de prostaglandina desde el endometrio uterino. En rumiantes no preñadas el

aumento en oxitocina inicia los mecanismos luteolíticos y en última instancia resulta en la liberación pulsátil de prostaglandina desde el útero llevándolo a la luteólisis y al retorno del ciclo estral (Bridges *et al.* 2013).

El interferón Trofoblástico bovino (bINT- t) llamado así por el sitio de producción, es la principal señal para el éxito en el establecimiento de la preñez que favorece los procesos luteotrópicos funcionales y estructurales, garantizando la producción de progesterona y la integridad de las células, que constituyen el cuerpo lúteo.

Dentro de los principales efectos del bINT-t esta la inhibición de la síntesis y la liberación de la PGF2 α en el endometrio bovino, el bajo porcentaje de concepción es provocado por la alta incidencia de muerte embrionaria temprana. Una alta proporción de embriones mueren antes de los 16 días pos- inseminación, de esa forma, viendo que la muerte del embrión ocurre antes del reconocimiento materno de la gestación, las vacas regresan al estro en un periodo equivalente a un ciclo normal (Lenis *et al.* 2010).

La mortalidad embrionaria constituye un problema reproductivo ya que en la mayoría de ocasiones se presenta sin alterar la duración del ciclo estral. La mortalidad embrionaria relacionada con fallas en el establecimiento del ambiente embriotrófico puede resultar si hay defectos intrínsecos en el embrión, en el balance hormonal materno o asincronía entre la madre y el embrión. La mayor parte de los embriones mueren entre los 8 y 17 días de la gestación, por lo que no se presenta en forma aparente ningún disturbio en la duración del ciclo estral. El embrión puede morir al producir pocas cantidades de IN Ft y no lograr inhibir la luteólisis, por fallas genómicas o por tener algún grado de degeneración al momento en que debe darse la señal de reconocimiento. Algunas vacas repetidoras de calores tienen menores niveles de Progesterona, por lo cual se han implementado técnicas como el suministro de progesterona exógena o la inducción del cuerpo lúteo accesorio para aumentar la tasa de preñez. Por otro lado, también pueden presentarse carencias en el ambiente embriotrófico cuando no existe una correcta sincronía entre la madre y el embrión, disminuyendo la tasa de preñez. Por estas razones se considera que la relación de la progesterona y el IN Ft, que se establece en la preñez temprana, es interdependiente para llevar a cabo las funciones necesarias para que se establezca el ambiente embriotrófico (Gonella *et al.*, 2010).

Uno de los tratamientos más comunes en investigación fue la aplicación de GnRH tanto a los 5, 7, 11 o 15 días post servicio o una combinación de estos días. La administración

de eCG en el día 5 post servicio incrementó el número de cuerpos lúteos y la progesterona plasmática y las tasas de concepción al día 28, 45 y 90 y este aumento fue más marcado en vacas que perdían condición corporal (Cutaia *et al.* 2003).

La administración de somatotropina bovina (bST) en vacas lecheras de alta producción tendría un efecto negativo en la reproducción debido a que disminuye la expresión de celo, sin embargo, estimularía el desarrollo del embrión y aumentaría la tasa de concepción. La bST incrementa la expresión de proteínas como IGF- II y IGFBP-3 y del RNA mensajero para la hormona de crecimiento en el endometrio, como así también disminuye la estimulación sobre la liberación de prostaglandina y esto podría beneficiar la implantación del embrión (Cutaia *et al.*, 2003).

La Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) es una glicoproteína compleja con actividad semejante a las hormonas folículo estimulante y luteinizante (FSH y LH), esta administrada previo a la ovulación estimula el crecimiento folicular a través de su acción de Hormona folículo estimulante y luteinizante (FSH y LH), aumentando el tamaño del folículo preovulatorio, incrementando así las concentraciones plasmáticas de progesterona luego de la ovulación, mejorando así el desarrollo embrionario y el mantenimiento de la preñez, otra función de esta hormona es la estimulación y sincronización del crecimiento folicular conjuntamente con la ovulación de esos folículos y formación de cuerpos lúteos accesorios, previo al período crítico, incrementando la producción de progesterona y por tanto ser una alternativa para reducir pérdidas de gestación (Núñez Olivera, 2011).

Tomando en cuenta los diferentes factores que afectan la parte reproductiva en la región de la amazonia ecuatoriana, de acuerdo a Yáñez *et al.* (2021), los ganaderos del sitio están en la necesidad de cambiar estos efectos reproductivos en sus hatos, mediante la aplicación de nuevas biotecnologías para el manejo reproductivo, buscando mejorar esa eficiencia reproductiva. Es por ello que el presente trabajo investigativo pretende eso, determinando para ello el efecto de la aplicación de eCG al día 14 posterior a la IATF basándose en las características luteales y la tasa de preñez de vacas de la Amazonia Ecuatoriana, utilizando protocolos que alargan el tiempo del proestro.

5. Metodología

5.1. Lugar de ejecución y periodo de duración

Para la ejecución de investigación se la desarrolló en dos fases.

Fase 1.- Labor de campo; la cual se la realizó en el cantón Pastaza provincia de Pastaza que se ubica en la región central de la Amazonia, este cantón conforma uno de los 4 cantones entre Arajuno, Mera, Santa clara. Las coordenadas de latitud 0° 59' 1'' S y longitud 77° 49' 0'' W (GADMP, 2020), con una extensión de 19.944,86 Hectáreas. El cantón Pastaza se encuentra conformado por 13 parroquias rurales, las mismas que poseen una producción ganadera doble propósito siendo una de las remuneraciones principales en el sector agropecuario sobre esta región (Alemán *et al.* 2020), con una temperatura que promedia entre 25°C a 30 °C, con un clima Trópico Húmedo, y una humedad relativa de un 80 – 90%, precipitación de 4000 - 5000 mm/año promedio y una altitud que varía desde los a 600 y 900 msnm.

Fase 2.- Exámenes de laboratorio: las muestras de sangre que se recolectó en la investigación, se envió al laboratorio LAB VET de la ciudad de Quito, provincia de Pichincha, se analizaron bajo la técnica FIA.

5.2. Descripción del material experimental

Se usó 52 vacas para el Tratamiento 1 y 55 vacas para el Tratamiento 2, todas en producción con cría al pie, de las razas Holstein, Pardo Suizo y sus cruza, multíparas con una edad de entre 34 y 65 meses, condición corporal (CC) $\leq 2,5$ (escala del 1 al 5) (Edmonson and Lean, 1989) y con un peso de entre 350 y 380 Kg. Las vacas fueron seleccionadas por la presencia de folículos > 8 mm de diámetro en sus ovarios, detectados por ecografía (Ecógrafo Minitube con sonda lineal de 5 Mhz). Las vacas utilizadas en el estudio tuvieron un rango de días abiertos de 90 a 130 días, alimentadas al pastoreo con pasturas en base de *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha*, *Arachispinto*, *Desmodium ovalifolium* y *Stylosanthes guianensis*. Se utilizó pajillas de semen de 0.50 ml de raza Pardo Suizo y Holstein, previamente analizado.

5.3. Variables de estudio

Tabla 1 Caracterización de las Variables.

Variable	Definición	Categorías	Unidades	Instrumento
Preñez	Estado de la hembra que lleva en el útero un embrión o un feto.	Preñada =1 Vacía = 0	%	Ecógrafo
Folículo	Saco pequeño lleno de líquido ubicado en el <i>ovario</i> que contiene un óvulo inmaduro	Día 0 Final proestro	mm	Ecógrafo
Cuerpo Lúteo	Tejido dinámico que se forma a partir del folículo de Graaf, una vez que el ovocito ha sido liberado del folículo ovárico	Día 14 Día 30	mm	Ecógrafo
Progesterona	Hormona sexual que liberan los ovarios y posteriormente la placenta.	Día 14 Día 30	ng/dL	Laboratorio Técnica FIA
Expresión de Celos	Período durante el cual las hembras de la clase mamíferos están receptivas sexualmente	Presencia de celo =1 Ausencia de celo =0	%	De manera visual y despintado del 50% de la base de la cola

5.4. Tratamientos a aplicar en los animales

Tratamiento 1

J-Synch + eCG (n=52). En el día 0, se realizó la primera evaluación ecográfica para el análisis del estatus ovárico y se aplicó 2 mg de BE i.m. junto con un dispositivo intravaginal 0,5 g. (DIB®, Zoetis, Ecuador). El día 6 se retiró el dispositivo y se aplicó 500 µg de Cloprostenol (PGF_{2α}, Ciclase® DL, Zoetis, Ecuador) más la administración de 400 UI de eCG (Novormon® 5000, Zoetis, Ecuador). Se aplicó un marcador de pintura en la base de la cola para observar la presencia de celo previo a la IATF. Las vacas que presentaron celo, antes de las 60 h, se inseminó a las 60 h y las que no presentaron celo se inseminó a las 72 h más la administración i.m. de 100 µg Acetato de gonadorelina (GnRH, Gonasyn GDR®, Zoetis, Ecuador), el día 9 se realizó la medición ultrasonográfica del diámetro del folículo mayor. Al día 14 y 30 pos-inseminación se midió por medio de ultrasonografía el tamaño de cuerpo lúteo (CL) y se tomó una muestra de sangre y se analizó la concentración plasmática de P4 (ng/mL). El diagnóstico de gestación se realizó a los 35 a 40 días posteriores a las IATF mediante ultrasonografía, (Ecógrafo Minitube con sonda lineal de 5 Mhz).

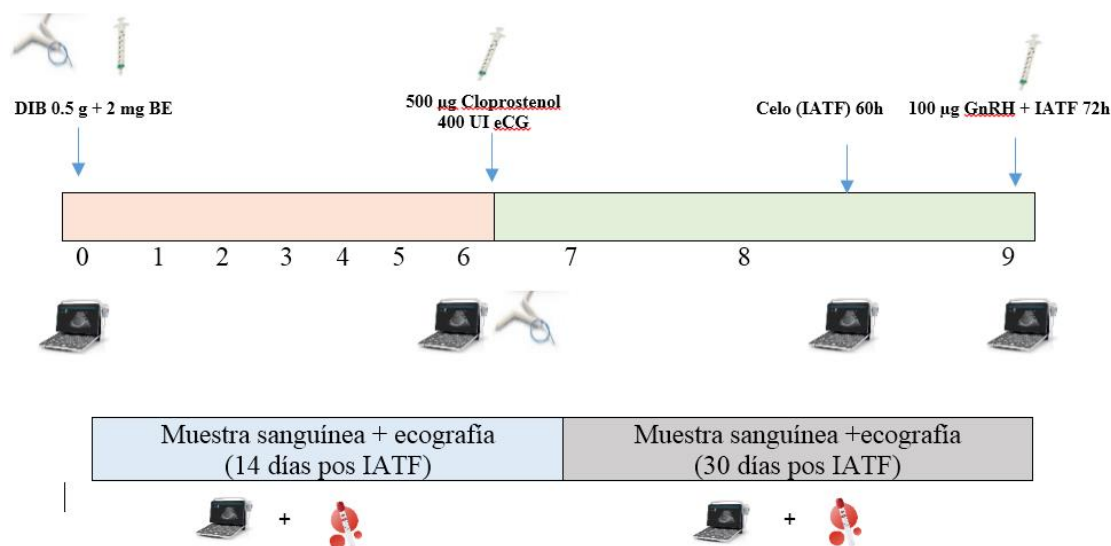


Figura 1 Esquema del Tratamiento 1: J-Synch + eCG .

Tratamiento 2

J-Synch + eCG (n=55). En el día 0, se realizó la primera evaluación ecográfica y se analizó el estatus ovárico, además se aplicó 2 mg de BE i.m. junto con un dispositivo intravaginal 0,5 g. (DIB®, Zoetis, Ecuador). El día 6 se retiró el dispositivo y se aplicó 500 µg de Cloprostenol (PGF_{2α}, Ciclase® DL, Zoetis, Ecuador) más se administró 400 UI de eCG (Novormon® 5000, Zoetis, Ecuador). Se aplicó un marcador de pintura en la base de la cola y se observó la presencia de celo previo a la IATF, las vacas que presentaron celo antes de las 60 h, se inseminó a las 60 h y las que no presentaron celo se inseminó a las 72 h más la administración i.m. de 100 µg Acetato de gonadorelina (GnRH, Gonasyn GDR®, Zoetis, Ecuador), al momento de la IATF. El día 9 se realizó la medición ultrasonográfica del diámetro del folículo mayor. Al día 14 se midió el tamaño del CL mediante Ultrasonografía, se administró una segunda dosis de 400 UI de eCG (Novormon® 5000, Zoetis, Ecuador) y al día 30 pos-inseminación se midió mediante ultrasonografía el tamaño de cuerpo lúteo (CL). Se tomó una muestra de sangre al día 14 y 30 pos IATF, y se analizó la concentración plasmática de P4 (ng/mL). El diagnóstico de gestación se realizó a los 35 a 40 días posteriores a las IATF mediante ultrasonografía, (Ecógrafo Minitube con sonda lineal de 5 Mhz).

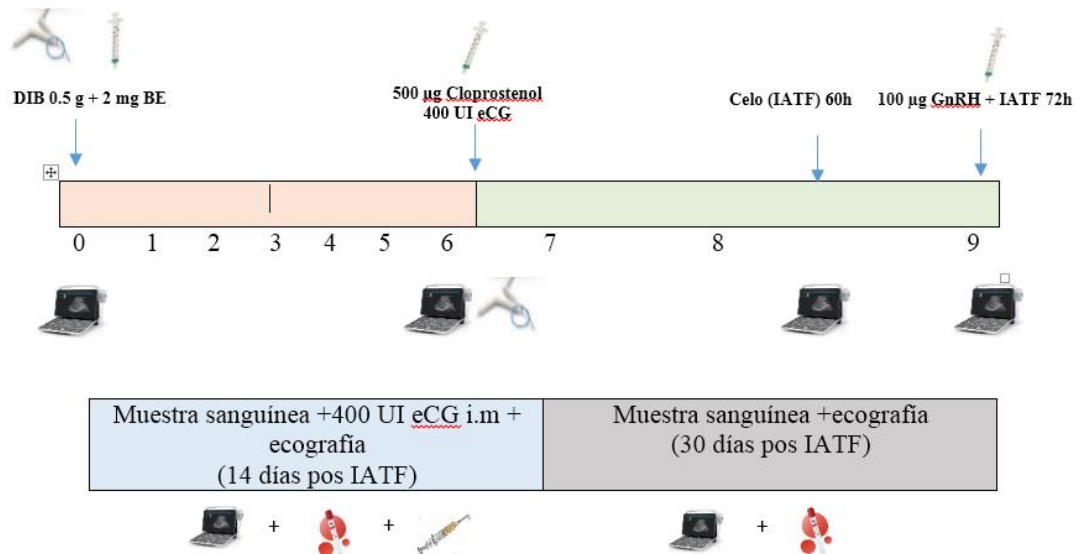


Figura 2 Esquema del Tratamiento 2: J-Synch + 2 dosis de eCG

5.5. Toma de muestras

Instaurado los tratamientos para la sincronización de celos en cada animal se continuó con la obtención de muestras de sangre para su evaluación en laboratorio, este proceso se lo realizó a los 14 y 30 días pos IA, de la vena coccígea o caudal, siendo la zona habitual mencionada por la literatura. Primero se rotuló los tubos de recolección para evitar confusión con las muestras de cada animal.

Se tomó la muestra de sangre en tubo vacutainer, obtenidas las muestras; se guardó en la hielera cooler a 4°C por 4 a 6 horas desde su extracción hasta el laboratorio. Se centrifugó las muestras a 3000 rpm en un total de 20 minutos, con el objetivo de obtener el suero y exponerlo al correspondiente análisis.

Para el análisis de concentraciones séricas de P4 se utilizó 36 muestras para este ensayo: (J – Synch + eCG) = 18 muestras; y (J – Synch + 2 dosis de eCG) = 18 muestras analizadas individualmente mediante Kits de progesterona (iChroma™Progesterona CFPC - 21– Korea). Se utilizó la técnica de Inmunoensayo de fluorescencia (FIA) para la determinación cuantitativa de P4 en suero. La prueba utiliza un método de inmunodetección competitivo. En este método, el analito en la muestra se une al anticuerpo de detección marcado con fluorescencia (FL) en el buffer de detección, para

formar el complejo como mezcla de muestra. Este complejo se carga para migrar a la matriz de nitrocelulosa, donde el par covalente de P4 y la albúmina de suero bovino (BSA) están inmovilizadas e interfiere con la unión del analito y el anticuerpo marcado con fluorescencia (FL). Si existen más analitos en la muestra, se acumulan menos anticuerpos de detección, lo que resulta en menos señal de fluorescencia (Abraham *et al.*, 1972). En la sensibilidad la concentración mínima de progesterona detectable que puede distinguirse en un rango de trabajo: (0.127 a 127.2 nmol /L y 0,4-40 ng / mL con un límite de confianza del 99%. El coeficiente de variación (CV) intra-ensayo fue de: bajo (5,2%) y alto (6,2%) (Abraham *et al.*, 1972).

5.6. Análisis de la información

Se realizó inicialmente una prueba de normalidad de los datos obtenidos para cada variable de estudio y posteriormente someterlas a pruebas paramétricas o no paramétricas según sea el caso.

T-Student

La prueba “t” de Student es una clase de estadística deductiva, se la empleó especialmente para analizar características cualitativas, para establecer si existe un contraste significativo entre las medias de 2 grupos, es decir estudia las diferencias entre 2 muestras independientes y de tamaño reducido la cuales deben poseer una distribución normal y que la muestra sea homogénea (Sánchez, 2015). De esta forma lo que se evaluó entre los grupos de tratamientos 1 y 2: concentraciones séricas de progesterona, tamaño del cuerpo lúteo y tasa de preñez marcan con 1 (preñada) y 0 (vacía).

Correlación lineal de Pearson

Obteniendo los valores de progesterona en sangre de los dos tratamientos, tomados tanto al día 14 como al día 30 por medio de la correlación lineal de Pearson se estudiara los datos (Dagnino, 2014). La correlación lineal de Pearson analizó el nivel de dependencia que tienen 2 variables donde se usa la fórmula:

$$r = \frac{P_{XY}}{P_X P_Y}$$

Para su interpretación el valor de r puede variar entre -1 a 0 o a su vez 0 a 1 , cuando el valor es más cercano a -1 o $+1$, el resultado final de “ r ” nos señala que entre las variables X (tamaño del cuerpo lúteo) e Y (niveles de progesterona) existe una correspondencia alta, a su vez, cuando el valor de “ r ” exprese 0 esto se interpretara que no existe una correlación lineal entre las variables (Dagnino, 2014).

ANOVA de una vía

La prueba estadística para el análisis de varianza, se utilizó para evaluar variables cuantitativas cuando existen más de 2 grupos con el objetivo de identificar si sus diferencias son estadísticamente significativas. ANOVA de una vía radica en calcular la varianza total que es cuanto se dispersan los datos de la gran media, varianza entre grupos y varianza intragrupal (Dagnino, 2014).

6. Resultados.

6.1. Tasa de preñez

Al analizar la Tabla 2 podemos observar que en el total del ensayo, de las 107 vacas inseminadas, 60 vacas se preñaron representando el 56,0%. La tasa de preñez del; T1 (J-Synch+eCG) fue del 53,8% y del T2 (J-Synch+ 2 dosis de eCG) fue de 58,2%, no mostraron diferencias significativas ($P=0,6551$).

Tabla 2 Tasas de preñez obtenida en los protocolos J-Synch+eCG y J-Synch+eCG al día 14.

Tratamientos	Nº animales	Animales preñados	% preñez
T1	52	(28/52)	53,8
T2	55	(32/55)	58,2
Total	107	(60/107)	56,1

Los porcentajes no difieren ($>P=0,7$).

6.2. Expresión de celo vs porcentaje de preñez en los tratamientos analizados

Se encontró un 71,0% (76/107) de presencia de celo del total de animales para ambos tratamientos. El porcentaje de animales con presencia de celo para el T1 fue: 71,2% (37/52) y para el T2 fue: 71,0% (39/55) sin diferencias significativas ($P>0,05$). En la Tabla 3, se observa en las vacas que manifestaron celo; la tasa de preñez fue del 56,6% y las vacas que no manifestaron celo, fue del 53,8 %, en ambos tratamientos sin encontrar diferencias significativas ($P>0,05$). Pero existe diferencia significativa en el grupo de vacas sin presencia de celo: T1 (46,7%) y T2 (62,5%) ($P<0,05$).

Tabla 3 Tasa de preñez en relación a la presencia de celo en cada tratamiento

Tratamientos	Nº- animales	Con celo	Sin celo	Tasa de Preñez Acumulada
T1	52	21/37 (56,8%)	7/15 (46,7%)	28/52(53,8%)
T2	55	22/39 (56,4%)	10/16 (62,5%)	32/55 (58,2%)
TOTAL	107	43/76 (56,6%)	17/31 (54,8%)	60/107 (56,1%)

Los porcentajes no difieren ($P>0,05$)

6.3. Tamaño de CL y concentración de progesterona

Tabla 4 Tasa de preñez, tamaño CL y concentraciones séricas de P4 al día 14 y 30 pos IATF en vacas de la Amazonia sometidas al tratamiento J-Synch.

Tratamientos	N	Tasa de Preñez (%)	CL (mm) día 14	CL (mm) día 30	P4 (ng/ml) al día 14	P4 (ng/ml) al día 30
T1	18	50,0% (9/18)	22,0 ± 0,3	22,0 ± 0,3	8,4	10,2
T2	18	55,5% (10/18)	21,0 ± 0,3	22,2 ± 0,5	9,6	10,9
TOTAL	36	52,8 % (19/36)	21,5 ± 0,3	22,1± 0,4	9	10,6

Las medidas no difieren (P>0,05)

En la Tabla 4 se muestran las tasas de preñez, el diámetro del CL y las concentraciones séricas de P4 en las vacas de los tratamientos T1 y T2 que fueron evaluadas. No hay diferencia significativa para las tasas de preñez, tamaño del CL (P>0,05) en ninguno de los tratamientos. Al igual que los niveles plasmáticos de P4, en el T1 y T2, no se observó diferencia significativa (P>0,05)

6.4. Análisis del estatus ovárico en los tratamientos

En el día 0, la presencia de CL para el T1 fue del 25,0% y para el T2 fue del 27,0% sin mostrar diferencias significativas (P>0,05), pero, se encontró un efecto significativo de la presencia de un CL sobre la tasa de preñez del T2 (87%) (P=0,006), además, el tamaño del folículo dominante al retiro, al momento de la IATF, y el diámetro del CL medido al Día 14 (Tabla 5), no difirió significativamente entre tratamientos (P>0,05).

Tabla 5 Estatus ovárico de los animales en los tratamientos analizados y su relación con la preñez.

Tratamiento	Tamaño folículo retiro DIV / mm	Tamaño folículo día 9 o IA / mm	Tamaño CL día 14/mm	% preñez
T1	9,6±0,5 ^{aa}	12,0±0,6 ^{aa}	20,0±5,9 ^a	53,8
T2	9,8±1,0 ^{aa}	11,9±1,2 ^{aa}	21,3±4,0 ^a	58,2

^{aa}No muestran diferencias significativas (P>0.05).

7. Discusión

Los resultados obtenidos en esta tesis permiten analizar la hipótesis planteada acerca de la adición de dos dosis de eCG al Día 6 y 14 en protocolos de IATF con proestro prolongado, con la finalidad de mejorar la tasa de preñez, caracterización folicular y concentración plasmática de progesterona en vacas de la Amazonía Ecuatoriana.

7.4. Tasa de preñez.

En general un 50,0% de concepción en promedio se considera como aceptable en los resultados de programas de IATF, teniendo en cuenta que esto se logra en un día de inseminación sin la necesidad de detectar celo (Bó *et al.*, 2016).

En el presente trabajo la tasa de preñez general obtenida fue de 56,1% e incluso en el tratamiento 2 (J-Synch+eCG 2 dosis) fue de 58,2%, lo cual supera lo recomendado para programas de IATF y más aún si se considera que estos animales están en un ambiente de estrés calórico como es el trópico húmedo de nuestra Amazonia Ecuatoriana, sin embargo, no se presentó diferencia significativa entre tratamientos. Resultados diferentes fueron reportados por Ortíz *et al.*, (2017), analizando protocolos convencionales; en el cual, el Tratamiento B (aplicación de una dosis de eCG previo a la ovulación) alcanzó una tasa de preñez de 46%, mientras que Tratamiento D (administración de una dosis de eCG previo a la ovulación y una segunda dosis 14 días post IATF) obtuvo el 60%, encontrando diferencia significativa entre ambos. Esto podría ser explicado, según Mapletoft *et al.*, (2022) se debe al estímulo directo de la eCG sobre el desarrollo folículo ovulatorio derivando en un incremento en las tasas de ovulación, sin embargo, Ortega *et al.*, (2020), no reportó diferencias significativas en la tasa de preñez entre tratamientos con protocolo J –Synch, con o sin la administración de eCG.

7.5. Expresión de celo y relación con la tasa de preñez.

Al analizar la tasa de preñez con y sin presencia de celo en los dos tratamientos, no difirieron a pesar de que vacas que presentaron celo obtuvieron un porcentaje de preñez del (56,6%) a comparación de las que no presentaron celo (54,8%), similar a lo obtenido por Pilla *et al.*, (2022), donde el porcentaje de preñez con celo fue de 53,7% y sin celo de 57,6% para el tratamiento J-Synch más la administración de eCG y los resultados

reportados por Yáñez *et al.*, (2018) dónde la expresividad de celo de T1 (administración de una dosis de eCG previa a la ovulación) fue de 75,7% y 64,9% para el T2 (administración de una dosis de eCG previa a la ovulación). Estos resultados obtenidos puede deberse al momento de inseminación, ya que pudo haber jugado un rol importante cuando los animales, fueron inseminados a estro detectado, considerando que la ovulación en las vacas ocurre entre las 12 y 24 h de culminado el celo (Trimberger, 1948; Walker *et al.*, 1996), luego de la ovulación el ovocito tiene un período corto para ser fecundado, la fertilidad óptima se obtiene 6 y 12 h culminado el celo, (Brackett *et al.*, 1980) y la viabilidad media de los espermatozoides en el tracto genital de la hembra se estima entre 24 y 30 h, contrastando lo obteniendo en el T2 (J Synch con 2 dosis de eCG), el cual presentó una diferencia numérica, mas no, una diferencia estadística de tasa de preñez (Trimberger, 1948). En vacas que no presentaron celo en los dos tratamientos, se observó diferencia significativa a favor del T2 (62,5%). Este comportamiento pudo deberse al estatus ovárico encontrado al inicio de los tratamientos, en vacas con una CC de $\leq 2,5$ (escala del 1 al 5), observando mayor tasa de preñez en vacas que presentaron CL 18/28 (64,2%) que en vacas con folículos mayores a $>8\text{mm}$, 42/79 (53,1%). Similar a datos encontrados por Armendano *et al.*, (2015), en el cual, determinó una asociación estadísticamente significativa entre el Estatus Ovárico (EO) al inicio del protocolo de sincronización de la ovulación y la CC.

7. 3 Tamaño del CL y concentración de P4.

Las concentraciones de P4 analizadas en este experimento en el día 14 post IATF fue de 8,4 ng/ ml para T1 y de 9,6 ng/ml para T2, y el día 30 las mismas fueron de 10,2 ng/ml para T1 y 10,9 ng/ml para T2, sin mostrar diferencia significativa. Rosero *et al.*, (2021) encontró niveles séricos de progesterona muy por debajo de los encontrados en la Amazonía Ecuatoriana obteniendo para J- Synch 7 días ($7,0 \pm 1,2$ ng/ml) y de ($6,8 \pm 1,4$ ng/ml) para el J-Synch de 6 días, ambos tratamientos J Synch tuvieron la administración de 400 UI de eCG el día del retiro del dispositivo Intravaginal y no manifestaron diferencia significativa entre ambos protocolos. Resultados inferiores a los nuestros también fueron obtenidos por Pilla *et al.*, (2022), en el cual, se obtuvo como resultado una concentración sérica de progesterona de 6,72 ng/ml para el tratamiento J Synch. La P4 es de suma importancia en la sobrevivencia del embrión y posterior feto, pues es la

que mantiene un ambiente favorable en el endometrio para un desarrollo favorable del mismo, el cual se puede ver afectado por muchos factores entre ellos los deficientes niveles de P4 (Nuñez *et al.*, 2020).

El diámetro del Cl medido el día 14 post IATF fue de $20,0 \pm 5,9$ mm para el T1 y de $21,3 \pm 4,0$ mm para el T2, sin mostrar diferencia significativa. Estos valores difieren con los reportados por López *et al.*, (2017), donde alcanzó un diámetro de $25,4 \pm 0,2$ mm, siendo el tratamiento J-Synch el que mejores resultados generó en relación con otros protocolos de sincronización, por otro lado, Ortíz *et al.*, (2017), menciona que, el tamaño del CL alcanzado el día 7 post IATF en el (TB) Tratamiento con una dosis de eCG (400 UI) al retiro del DI fue: $19,7 \pm 0,7$ y $20,7 \pm 0,7$ para el (TD) Tratamiento con dos dosis de eCG, una al momento de retiro del DI y la otra a los 14 días de la IATF, así mismo, se evaluó el diámetro del CL el día 20 post IATF obteniendo un tamaño de $19,3 \pm 0,6$ para el TB y un diámetro de $22,5 \pm 0,7$ para el TD existiendo diferencias significativa entre tratamientos.

El uso de eCG tiene una relación directa del tamaño del folículo dominante durante la Inseminación Artificial, derivando en mejores tasas de ovulación, debido a que la hormona tiene la capacidad de unirse a receptores FSH y LH, también el incremento en el diámetro folicular y tasa de ovulación derivan en un CL de mayor tamaño y funcionalidad y por lo tanto en incrementos de los niveles de P4 circulante y de esta manera la tasa de supervivencia del embrión es mejor (Mapletoft *et al.*, 2022). El uso de dos dosis eCG aumenta la síntesis de P450_{scc} y 3 β -HSD, además de incremento en la cantidad de células luteales y densidad de mitocondrias en forma de esferas en el cuerpo lúteo, existiendo así, una mayor cantidad hormonal (Portillo *et al.*, 2015). Uno de los motivos que podría explicar estos resultados es lo planteado por Murphy y Martinuk, (1991) el probable efecto negativo de no tener suficientes niveles de estradiol circulantes en las vacas tratadas con el protocolo J-Synch, haya sido superado por el efecto estimulante de la esteroidogénesis que produce la eCG al unirse sobre los receptores de FSH y LH de los folículos dominantes, y no muestre diferencias significativas entre tratamientos.

7.4 Estatus ovárico

Para el análisis del estatus ovárico de los tratamientos se consideró el tamaño del folículo al momento de la IAFI, en donde se obtuvo un diámetro para el T1 $12,0 \pm 0,6$ mm y $11,9 \pm 1,2$ mm para T2, existiendo una tasa de crecimiento mm/día de $0,90 \pm 0,1$ para el tratamiento 1 y $0,81 \pm 0,1$ para el tratamiento 2, no se evidenció diferencia significativa del tamaño y crecimiento mm/ diario del folículo durante las diferentes etapas de desarrollo, difiriendo con los presentados por Ortíz *et al.*, (2017), donde el tamaño del folículo pre ovulatorio son superiores, tanto para el tratamiento de administración de una dosis de eCG previo a la ovulación ($13,8 \pm 0,5$ mm), y el tratamiento de administración de una dosis de eCG previo a la ovulación y una segunda dosis 14 días IATF ($14,4 \pm 0,6$) sin demostrar diferencia significativa, mientras que, Portillo *et al.*, (2015), obtuvieron un diámetro del folículo preovulatorio de $13,85 \pm 0,47$ mm para el tratamiento de administración de 400 UI de eCG previo a la ovulación, y un tamaño folicular de $12,61 \pm 0,47$ mm para el tratamiento de administración de 200 UI de eCG previo a la ovulación, sin mostrar diferencia significativa, al igual que el crecimiento folicular mm/día para ambos tratamientos dieron resultados mayores en comparación a los expuestos en esta investigación, siendo de $1,44 \pm 0,27$ mm para el tratamiento de administración de 400 UI de eCG previo a la ovulación y $1,72 \pm 0,27$ mm para el tratamiento de administración de 200 UI de eCG previo a la ovulación.

En cuanto al tamaño del folículo dominante en este experimento en el día del retiro del dispositivo fue de $9,6 \pm 0,5$ y $9,8 \pm 1,0$ para T1 y T2 respectivamente sin existir una diferencia significativa, estos tamaños son diferentes con los reportados por García. (2023), en donde el tamaño del folículo fue de $9,46 \pm 1,22$ mm para el tratamiento con la administración de una dosis de eCG previo a la ovulación y $9,70 \pm 1,72$ mm para el tratamiento con la administración de una dosis de eCG al día 14 siendo mayor, similar a lo expuesto por Ortega *et al.*, (2020), el tamaño del folículo al retiro del dispositivo de progesterona no difirió entre los tratamientos ($P \geq 0,05$), aunque si se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) al momento de la inseminación artificial.

Las variables como la tasa de preñez, manifestación de celo, desarrollo folicular y concentración sanguínea de P4, tuvieron un comportamiento similar en comparación a estudios realizados en Sudamérica (Bridges *et al.*, 2013).

8. Conclusiones

- En protocolos con proestro prolongado más la adición de una segunda dosis de eCG al día 14 pos IATF, sin presencia de celo, presentan mayores tasas de preñez en vacas doble propósito de la Amazonia Ecuatoriana.
- La adición de una segunda dosis de eCG al día 14 en protocolos J – Synch no aumentó la tasa de preñez estadísticamente, pero resultó numéricamente mayor al igual que la concentración de P4 en la fase luteal posterior a la IATF
- La presencia de CL al día 0, influyo en el Tratamiento (T2) sobre la tasa de preñez, tamaño del folículo dominante al retiro, al momento de la IATF, y el diámetro del CL al día 14.

9. Recomendaciones.

- Al existir un incremento en la tasa de preñez con dos dosis de eCG, con un protocolo de proestro prolongado (J-Synch), es necesario continuar con esta investigación, pero analizando su costo beneficio de acuerdo al incremento de la tasa de preñez frente a un protocolo convencional utilizado en el medio.

10. Bibliografía.

- Abraham, G.E., Odell, W.D., Swerdloff, R.S., Hopper, K.J. (1972). Radioinmunoensayo simultáneo de FSH, LH, progesterona, 17-hidroxiprogesterona y estradiol-17 beta en plasma durante el ciclo menstrual. *Clin Endocrinol Metab*, 34: 2, 312-318.
- Alemán, R., Bravo, C., Vargas, J., Chimborazo, C. (2020). Tipificación agroecológica de los sistemas ganaderos en la región amazónica ecuatoriana. *Livestock Research for Rural Development* no.32.
- Allen, W. R. (2001). Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. *Reprod and fert*, 121: 513-527.
- 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.
- Arce, C., Aranda, E., Osorio, M., González, R., Díaz, P., Hinojosa, J. (2017). Evaluación de parámetros productivos y reproductivos en un hato de doble propósito en Tabasco, México. s.e. Consultado 4 abr. 2022. Disponible en <http://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/4347> (cienciaspecuarias.inifap.gob.mx).
- Armendano, J.I., González. S., Uslenghi. G., Cabodevila. J., Callejas. S.S. (2015). Efecto de la sal de estradiol, estatus ovárico y condición corporal sobre el porcentaje de preñez en vacas con cría IATF. *Rev. vet.* 26 (2).
- Baruselli, P.S., Marques, M.O., Madureira, E.H., Bó, G.A., Neto, C., Pinto, W., Grandinetti, R.R. (2000). Superestimulação ovariana de receptoras de embriões bovinos visando o aumento de corpos lúteos, concentração de p4 e taxa de prenhez. *Arquivos da Faculdade de Veterinária – UFRGS*, 28:218.
- Baruselli, P.S., Reis, E.L., Marques, M.O., Nasser, L.F., Bó, G.A. (2004). The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science* 82-83: 479-486.
- Baruselli, P. S., Martins, C. M., Sales, J. N. S., Ferreira, R. M. (2008). Recent advances in bovine superovulation. *Acta Sci Vet* 36: 433–448.
- Binelli, M., Sartori, R., Vasconcelos, J. L., Monteiro Jr, P.L.J., Pereira, M.H.C. and Ramos, R.S. (2014). Evolution in fixed-time: from synchronization of ovulation

- to improved fertility. At Juengel, JL; Miyamoto, A; Price, C; Reynolds, LP, 493-506.
- Bó, G. A., Cutaia, L., Brogliatti, G. M. (2001). Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado bovino utilizando progestágenos y estradiol. *IV Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC); Córdoba. Argentina*, 117-136.
- Bó, G.A., Cutaia, L., & Tribulo, R. (2002). Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Primera Parte. *Taurus* 14 10-21.
- Bó, G. A., Baruselli, P. S., Martinez, M. F. (2003). Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science* 78: 307-326.
- Bó, G. A., Cutaia, L. E., Souza, A. H., Baruselli, P. S. (2007). Systematic Reproductive Management in Dairy Herds. *Dairy Cattle Conference, Christchurch, New Zealand* .155 -168.
- Bó, G. A., Baruselli, P. S., Mapletoft, R. J. (2013). Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 10: 137-142.
- Bó, G. A., de la Mata, J. J., Ré, M., Huguenine, E., Menchaca, A. (2014^a). 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*. 95-100.
- Bó, G. A., Mapletoft, R. J. (2014^b). Historical perspectives and recent research on superovulation in cattle. *Theriogenology*, 81: 38-48
- 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*; 2016. 04.053
- Brackett, B.G., Oh, Y.K., Evans, J.F., Donawick, W.J. (1980). Fertilization and early development of cow ova. *Biology of Reproduction* 23: 189-205.
- Bridges, A., Lake, S., Lemenager, R. and Claeys, M. (2008). Timed-artificial insemination in beef cows: what are the option? Purdue Extension - *Animal Science AS-575-W*.

- Bridges, G.A., Mussard, M.L., Burke, C.R., Day, M.L. (2010). Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. *Anim Reprod Sci* 117: 208-215.
- Bridges, G. A., Mussard, M. L., Pate, J. L., Ott, T. L., Hansen, T. R., Day M. L. (2012). Impact of preovulatory estradiol concentrations on conceptus development and uterine gene expression. *Anim. Reprod. Sci.* 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.
- Butler, H., Alberio, R., Butler, A., Etcheverry, E. (2016). MORTALIDAD EMBRIONARIA EN BOVINOS PARA CARNE. s.e. Consultado 9 abr. 2022. Disponible en <http://sincrovac.com.ar/papers/Mortalidad-Embrionaria-Taurus-2016.pdf> (Sincrovac.com.ar).
- Carvalho, J. B. P., Carvalho, N.A.T., Reis, E.L., Nichi, M., Souza, A.H., Baruselli, P.S. (2008). Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus*×*Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology* 69: 167-175.
- Callejas, S. (2004). Control farmacológico del ciclo estral bovino: bases fisiológicas, protocolos y resultados. *Parte II. Rev Taurus* 25: 16–35
- Callejas, S., De Dominici, O., Madero, S., Cantallops, F., Cabodevila, J. (2005). Efecto del CPE administrado al momento de retirar un dispositivo intravaginal con progesterona o 24 hs después sobre el porcentaje de preñez a la IATF. Anuales VI Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba (Argentina), p. 391.
- Cedeño, A., Maingón, R., Avellán, J., Bravo, J., Veliz, J., Burgos, R., Mera, Y., García Guerra, A., Menchaca, A., Bó, G. A. (2019). Efecto de la duración del proestro y del periodo de inserción del dispositivo con progesterona sobre la tasa de preñez en vacas cebú con cría inseminadas a tiempo fijo. Simposio Internacional de Reproducción Animal Pabellón Argentino, Córdoba, Argentina. Resúmenes. 281 pp.
- Colazo, M.G., Kastelic, J.P., 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., 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.
- Colazo, M.G., Mapletoft, R.J. (2014). Una revisión de los programas actuales de IA cronometrada (TAI) para ganado de carne y leche. *Can Vet J.*; 55(8): 772–780
- Cutaia, L., Veneranda, G., Tríbulo, R., Baruselli, P.S., Bó, G.A., (2003). Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en rodeos de cría: factores que lo afectan y resultados productivos. En 5° Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina, pp. 119-132.
- Dagnino, J. (2014). Análisis de Varianza. s.e. Consultado 10 may 2022. Disponible En <https://revistachilenadeanestesia.cl/PII/revchilanestv43n04.07.pdf> (Revistachilenadeanestesia.cl). (Revistachilenadeanestesia.cl).
- Dadarwal, D., Mapletoft, R.J., Adams, G.P., Pfeifer, L.F.M., Creelman, C. and Singh, J. (2013). Effect of progesterone concentration and duration of proestrus on fertility in beef cattle after fixed-tine artificial insemination. *Theriogenology* 79(5): 859-866.
- D’occhio, M., Neish, A., Broadhurst, L. (1990). Differences in gonadotrophin secretion post-partum between zebu and european breed cattle. *Animal Reproduction Science* 22: 311-317.
- De la Mata, J. J., 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.
- Edmondson, A. J., Lean, I. J. (1989). A body condition scoring chart for Holando dairy cows. *Tulare 93274. Journal of Dairy Science*, 72: 68-78.
- Echternkamp, S.E., and Thallman, R.M. (2011). Factors affecting pregnancy rate to estrous synchronization and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Journal of Animal Science* 89: 3060-3068.
- GADMP. . 2020. Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del cantón Pastaza 2019-2030. s.e. Consultado 1 may 2022. Disponible en <https://puyo.gob.ec/wp-content/uploads/documentos/departamentos/planificacion/pdot/pdot-pastaza-2020-2030.pdf> (<https://puyo.gob.ec/>).

- García, E.F. (2023). Efecto de la aplicación de eCG al día 14 pos IATF sobre características luteales y tasa de preñez en vacas doble propósito de la Amazonía Ecuatoriana. Tesis de Grado. Universidad Técnica de Ambato, Ecuador. 2023. p. 24-31.
- Ginther, O.J., Kastelic, J.P., and Knopf, L. (1989). Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Animal Reproduction Science* 20:187-200.
- Gonella, A. D., Grajales, H. L., Hernández, A. V. (2010). Ambiente receptivo uterino: control materno, control embrionario, muerte embrionaria. *Rev. MVZ Cordoba*; 15:1.26.
- Hafez, E. S. E., Jainudeen, M. R., Rosnina, Y. (2000). Hormonas, factores de crecimiento y reproducción. 7ma edición. En Hafez, ESE y Hafez B Reproducción e inseminación artificial en animales. Mexico: Ed McGraw- Hill Interamericana. 33-56 pp.
- Jinks, E.M., Smith, M.F., Atkins, J.A., Pohler, K.G., Perry, G.A., MacNeil, M.D., Roberts, A.J., Waterman, R.C., Alexander, L.J. and Geary, T.W. (2012). Preovulatory estradiol and the establishment and maintenance of pregnancy in suckled beef cows. *Journal of Animal Science* 91: 1176-1185.
- 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 PGF2 α in a 5-day progesterone-based Co-Synch protocol on heifer pregnancy. *Theriogenology* 81: 797-804.
- Lenis, Y. Y., Gutierrez, M. T., Tarazona, A. M. (2010). Efectos de los fitoestrógenos en la reproducción animal. *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín*;63:2.
- López, J. C., Moyano, J. C., Quinteros, R., Vargas, J. C., Daniel Rentería, I. C., Lammoglia, M., 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.
- López, J. C. (2017). Comparación de protocolos de IATF convencionales con un protocolo con proestro prolongado en vacas doble propósito en la Amazonía Ecuatoriana. *Tesis de Maestría. Universidad de Córdoba – Argentina*. 52 pp.

- Mann, G.E., 2000. Progesterone and Fertility. *Animal Reproduction Science*, 115(1–4), 296–299.
- Madsen, C.A., Perry, G.A., Mogck, C.L., Daly, R.F., MacNeil, M.D., Geary, T.W. (2015). Effects of preovulatory estradiol on embryo survival and pregnancy establishment in beef cows. *Anim. Reprod. Sci.* 158, 96-103.
- Mapletoft, R., Baruselli, P., & Bó, G. (2022). FISIOLÓGIA RELACIONADA AL USO DE LA ECG EN GANADO DE CARNE Y LECHE. *ASPRA*, 12(1), 83–91.
- Marizancén, M., Artunduaga, L., (2017). Mejoramiento genético en bovinos a través de la inseminación artificial y la inseminación artificial a tiempo fijo. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 8(2): 247-259.
- Martínez, M.F., Kastelic, J.P., Bó, G.A., Caccia, M. and Mapletoft, R.J. (2005). Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. *Animal Reproduction Science* 86:37-52.
- Marquez, M.O., Sa Filho, M.F., Gimenes, L.U., Figueiredo, T.B., Sória, G.F., Baruselli, P.S. (2005). Efeito do tratamento com pgf2a na inserção e/ou tratamento com ecg na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção à inseminação artificial em tempo fixo em novilhas nelore, *Angra dos Reis*. p 287
- Mello, R., Ferreira, J., Mello, M., Palhano, H. (2014). Utilização da gonadotrofina coriônica equina (eCG) em protocolos de sincronização da ovulação para IATF em bovinos: *Rev. Bras. Reprod. Anim*; 38: 129-134.
- Miller, B.G., Moore, N.W., Murphy, L., and Stone, G.M., (1977). Early pregnancy in the ewe: effects of oestradiol and progesterone on uterine metabolism and on embryo survival. *Australian Journal of Biological Sciences* 30: 279–288.
- Murphy, B. D., Martinuk, D. (1991). Equine chorionic gonadotropin. *Endocrine, Reviews* 12: 27-44.
- Núñez, R., de Castro, T., Cutaia, L., Bó, G., Menchaca, A. (2011). Pregnancy rates after administration of equine chorionic gonadotropin (eCG) at progesterone intravaginal device removal and 14 days after fixed-time AI in beef cattle. *Reprod Fertil Dev*; 23:162.
- Núñez, R., Cuadro, B., Bosolasco, B., de Brun, B., de la Mata, J., Brochado, F., Meikle, B., Bó, G. y Menchaca, A. (2020). Efecto de la administración de gonadotropina coriónica equina (eCG) y la longitud del proestro sobre la respuesta ovárica, la

- funcionalidad uterina y la tasa de preñez en vaquillas 30 inseminadas a una hora fija. *Revista Teriogenología*, 151:16-17.
- Ortega, M., López-Parra, J., & Marini, P. (2020). Utilización de un protocolo con proestro prolongado con y sin eCG en vacas lecheras Holstein en la Amazonía Ecuatoriana. *ASPRA*, 21.
- Ortíz, N., Ayala, L., & Marini, P. (2017). Efecto de la eCG antes o después de la inseminación artificial a tiempo fijo sobre la dinámica folicular y la tasa de preñez en vacas Holstein mestizas en la Amazonía Ecuatoriana. *MASKANA*, 8, 49–51.
- Perry, G.A., Grant, J.K., Walker, J.A., Bridges, G.A., Kruse, S.G., Bird, S., Heaton, K., Arias, R., and Lake, S.L. (2012). Comparison of three CIDR based fixed-time AI protocols for beef heifers. *South Dakota State University - BEEF* 2012-01.
- Peter, A.T., Vos, P.L.A., and Ambrose, D.J. (2009). Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology*. 71:1333-1342.
- Pilla, M., Yáñez, D., Ortega, M., Aragadvay, R., & Marini, P. (2022). Evaluación del efecto de dos protocolos de sincronización sobre los niveles de estradiol y progesterona en vacas doble propósito en la Amazonía Ecuatoriana. *Serbiluz*, XXXIII, 1–7.
- Portillo, G., Gutiérrez, J., & De Ondiz, A. (2015). Efecto de la Dosis de eCG sobre las Características Foliculares y Luteales, momento y Tasa de Ovulación de Novillas Mestizas Cebú Sincronizadas con Progestágeno Intravaginal. *SciELO*, 56(1).
- Raso, M. (2012). Inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). *Ganadería* 2012: 203-205.
- Ré, M., de la Mata, J.J. and Bó, G.A. (2013). Synchronization of ovulation in dairy heifers using a shortened estradiol-based protocol that provides for a lengthened proestrus. *Reproduction, Fertility and Development* 26(1): 118.
- Rodríguez, C. E., Saavedra, G. F., Gómez, D. F. (2015). Efecto de la etapa de lactancia sobre la calidad físico química de leche en vacas de raza Holstein y Normando. *Zoot Trop* 33: 23-35.
- 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.

- Rosero, C.E., Ferrin, J.E. (2021). Valoración de los protocolos de proestro prolongado j-synch sobre el ambiente uterino en vaquillas cruza cebú. Tesis de Titulación de Médico Veterinario. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López– Ecuador . 52 pp.
- Sánchez, R. 2015. t-Studen Usos y abusos. s.e. Consultado 9 may 2022. Disponible en http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-21982015000100009 (Scielo.org.mx).
- Sartori, R., Haughian, J. M., Shaver, R. D., Rosa, G. J. M., Wiltbank, M. C. (2004). Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J. Dairy Sci.* 87:905-920.
- Savio, J.D., Keenan, L., Boland, M.P. and Roche, J.F. (1988). Pattern growth of dominant follicles during the oestrus cycle of heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 83: 663-671.
- Souza, A. H., H. Ayres, R. M. Ferreira, M. C. Wiltbank. (2008). A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 70: 208-215.
- Steward, F., Allen, W. R., Moor, R. M. (1976). Pregnant mare serum gonadotrophin: ratio of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone activities measured by radioreceptor assay. *J. of Endocrinology*, 71:371-382.
- 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., Gonzalez, S., Cabodevila, J., y 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.
- Valdez, K.E., Cuneo, S.P., Gorden, P.J. and Turzillo, A.M. (2005). The role of thecal androgen production in the regulation of estradiol biosynthesis by dominant bovine follicles during the first follicular wave. *Journal of Animal Science* 83: 597-603.
- Vera, J. (2017). Efecto del celo y el tratamiento con GnRH sobre la tasa de concepción en programas de inseminación artificial y transferencia de embriones bovinos. s.e.

Consultado 8 abr. 2022. Disponible en <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/5236> (Rdu.unc.edu.ar).

- Villa, M., García, M., Saint Martin, M y Rodríguez Pérsico, J.M. (2017). Efecto de la utilización de un protocolo corto (J-Synch) sobre la tasa de preñez en vaquillonas *Bos taurus*. 12° Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina. Pág. 398.
- Viscarra, J.R., Wettermann, J., Spitzer, D., and Morrison. (1998). Body condition at parturition and postpartum weight gain influence luteal activity and concentrations of glucose, insulin and nonesterified fatty acids in plasma of primiparous beef cows. *Journal Animal Science* 76: 493-500.
- Walker, W.F., Nebel, R.L., McGilliard, M.L. (1996). Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 79: 1555-1561.
- Whittier, W. D., Currin, J. F., Schramm, H., Holland, S., 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.
- Yáñez, D., López, J. C., Moyano, J. C., Quinteros, R., & Marini, P. (2018). Inseminación artificial a tiempo fijo en vacas con proestro prolongado de 60 y 72 horas. . *Agronomía Mesoamericana*; 366.
- Yáñez, D., Barbona, I.; López, J., Marini, P. (2021). Protocolo J-synch con y sin eCG en vacas Brown Swiss y sus cruza con Bos Indicus en la amazonía ecuatoriana. *La Granja* 33(1): 8-20.

11. Anexos



Anexo 1. Inicio de protocolos de sincronización en vacas.



Anexo 2. Retiro de implantes.



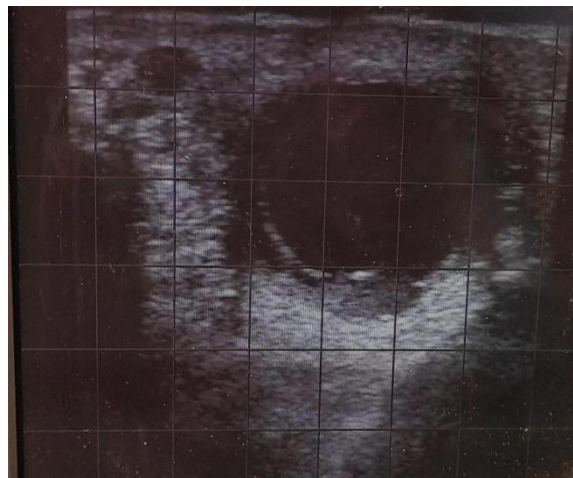
Anexo 3. Inseminación



Anexo 4. Adición de la segunda dosis de eCG.



Anexo 5. Toma de muestra de sangre



Anexo 6. Ultrasonografía

Anexos de las diferentes actividades en laboratorio



Anexo 7. Análisis de muestras de progesterona en sangre.



Anexo 8. Análisis de concentraciones serias de P4.

Anexo 9. Certificación de abstrac



Juan Pablo Ordóñez Salazar

CELTA-Certified English Teacher,
traductor e intérprete.

Certificación de traducción al idioma inglés.

Juan Pablo Ordóñez Salazar.
CELTA-certified English Teacher, traductor e intérprete.

CERTIFICA:

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma inglés, del resumen del trabajo de titulación denominado: Efecto de la adición de eCG pos protocolos de IATF con proestro prolongado sobre la tasa de preñez y caracterización folicular en vacas de la Amazonía ecuatoriana, de autoría del Ing. Vargas Fernández Tito Laban, con número de cédula 1600684391, egresado dela maestría en Reproducción Animal mención Rumiantes, de la facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja.

Lo certifico en honor a la verdad, y autorizo al interesado hacer uso del presente en lo que a sus intereses convenga.

Loja, 31 de octubre del 2023

1103601090 Firmado digitalmente
por 1103601090
JUAN PABLO
ORDÓÑEZ
SALAZAR Fecha: 2023.10.31
12:57:34 -05'00'

Juan Pablo Ordóñez Salazar

DNI: 110360109-0

Código de Perito de la Judicatura: 12298374

CELTA – CERTIFIED ENGLISH TEACHER, TRADUCTOR E INTÉRPRETE