

## UTILIZACIÓN DE UN PROTOCOLO CON PROESTRO PROLONGADO CON Y SIN ECG EN VACAS LECHERAS HOLSTEIN EN LA AMAZONÍA ECUATORIANA

### Use of protocol with prolonged proestrus with and without eCG in dual purpose dairy Holsteins cows in the Ecuadorian Amazons

Manuel Ortega-Coello<sup>1,2,3</sup>, Juan López-Parra<sup>2,4</sup>, Pablo Roberto Marini<sup>\*, 2,5,6</sup>

<sup>1</sup> Maestría en Reproducción Bovina. Instituto de Reproducción Animal y Universidad Nacional de Córdoba - Argentina.

<sup>2</sup> Centro Latinoamericano de Estudios de Problemáticas Lecheras (CLEPL). Ovidio Lagos y Ruta 33 CP (2170) Casilda Provincia de Santa Fe, Argentina.

<sup>3</sup> Ministerio de Agricultura y Ganadería - Ecuador.

<sup>4</sup> Ministerio de Agricultura y Ganadería. Subsecretaría de desarrollo Pecuario. Centro Nacional de Mejoramiento Genético y Producción El Rosario - Ecuador

<sup>5</sup> Universidad Nacional de Rosario (UNR), Facultad de Ciencias Veterinarias - Argentina

<sup>6</sup> Carrera de Investigador Científico (CIC) - Argentina.

\* Corresponding author  
Pablo Marini. E-mail:  
[pmarini@unr.edu.ar](mailto:pmarini@unr.edu.ar)

Recibido: 07/04/2020

Aceptado: 18/05/2020

Publicado: 21/08/2020

#### ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of eCG on presence estrus, ovulation time, pre-ovulatory follicle diameter and pregnancy rate in Holstein cows treated with a prolonged proestrus protocol in the Ecuadorian Amazon. The project was developed of the Province of Pastaza - Ecuador, from October 2018 to October 2019. The study used 306 Holstein multiparous dairy cows were used, milked once a day producing with an average production of 8 liters of milk per cow / day. Four treatments were used, the cows were artificially inseminated at fixed time on day nine T1: J - Synch + eCG + estrus FTAI 60 hours (n = 92); T2: J - Synch + eCG + without estrus + GnRH FTAI 72 hours (n = 61), T3: J - Synch + estrus FTAI 60 hours (n = 70); T4: J - Synch + without estrus + GnRH + FTAI 72 hours (n = 83). The pregnancy rate was 59.8% (T1), 54.1% (T2), 47.1% (T3) and 41.0% (T4). Follicular development and corpus luteum diameter showed significant differences ( $p \leq 0.05$ ). For this group of cows and with the production system used, any of the evaluated treatments could be manipulated interchangeably. Although, the J-Synch treatment with eCG and IA 60 hours would show a trend of better pregnancy rate.

**Keywords:** Holstein cows, estrus, follicular dynamics, pregnancy, progesterone

#### RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la eCG sobre la expresión de celo, el momento de la ovulación, diámetro del folículo preovulatorio y tasa de preñez en vacas Holstein tratadas con un protocolo de proestro prolongado en la Amazonía Ecuatoriana. Esta investigación se realizó en la Provincia de Pastaza - Ecuador, desde octubre del 2018 a octubre del 2019. Se utilizaron 306 vacas lecheras multiparas Holstein, que se ordeñaron una vez al día, con una producción promedio de 8 litros de leche por vaca/día. Se trabajó con cuatro tratamientos, las vacas fueron inseminadas artificialmente a tiempo fijo en el día nueve T1: J - Synch + eCG + Celos IATF 60 horas (n=90); T2: J - Synch + eCG + Sin Celos + GnRH IATF 72 horas (n=61), T3: J - Synch + Celos - IATF 60 horas. (n=70); T4: J - Synch+ Sin Celos + GnRH + IATF 72 Horas (n=83). La tasa de preñez fue del 59.8% (T1), el 54% (T2), el 47.1% (T3) y el 41% (T4). El desarrollo folicular y el diámetro del cuerpo lúteo mostraron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ). Para este grupo de vacas y con el sistema de producción utilizado se podrían manipular indistintamente cualquiera de los tratamientos evaluados. Aunque, mostraría una tendencia de mejor tasa de preñez el tratamiento J-Synch con eCG y IA 60 horas.

**Palabras clave:** vacas Holstein, celo, dinámica folicular, preñez, progesterona

## INTRODUCCION

El anestro posparto en vacas es uno de los factores que afecta negativamente el desempeño reproductivo en el trópico (Guáqueta et al., 2014). La corta duración del estro y la tendencia a mostrar el celo durante la noche, afectan en gran medida la eficiencia de los programas de inseminación artificial en ganado *Bos indicus* manejados en áreas tropicales (Baruselli et al., 2004).

El protocolo a base de estradiol y progesterona (P4) llamado J-Synch se ha perfeccionado con el objetivo de aportar un proestro prolongado, mejorando el desarrollo del folículo dominante preovulatorio, e incrementando la tasa de preñez después de la Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) en vaquillonas para carne (De la Mata y Bó, 2012) y para leche (Ré et al., 2018). La importancia de un proestro prolongado se generó luego de una serie de estudios que valoraron la influencia de la madurez folicular sobre la fecundidad en ganado vacuno (Day, 2015; Bridges et al., 2008; Menchaca et al., 2017) a su vez está demostrado que existe una alta incidencia de muerte embrionaria durante las primeras tres semanas después de la fertilización y que los primeros estadios de embrión hasta la etapa de concepto depende exclusivamente de las secreciones (histótrofo) del útero y oviductos (Binelli et al., 2017; Menchaca et al., 2017). Al comparar vacas que recibieron estradiol exógeno (Cipionato de estradiol y Benzoato de estradiol) en el periodo preovulatorio, con las que no lo recibieron, se demostró que niveles más altos de estradiol en sangre en dicho período, correspondieron con menores pérdidas embrionarias en la etapa entre el reconocimiento materno de la gestación y la implantación (Madsen et al., 2015; Menchaca et al., 2017).

Baruselli et al. (2004), han demostrado que el uso de gonadotropina coriónica equina (eCG) crea condiciones para estimular el crecimiento folicular y la ovulación, incluso en vacas que tengan problemas con la liberación de gonadotropina. Su uso ha presentado efecto positivo en vacas con baja tasa de ciclicidad (anestro), en animales recién paridos (período posparto inferior a 60 días), en animales que presentan baja condición corporal y que presentan comprometido el crecimiento del folículo dominante. Garnica, (2012) mostró resultados de la investigación, en la cual evaluó el efecto de la eCG sobre el desarrollo folicular y la ovulación en vacas Holstein posparto. Este trabajo concluyó en que la eCG no mejoró el diámetro del folículo dominante, pero sí la tasa de ovulación. Por otro lado, Ortiz et al. (2017) trabajaron con vacas lecheras Holstein mestizas manejadas en la Amazonía y mostraron el efecto de la eCG sobre el tamaño del folículo preovulatorio, cuerpo lúteo en el día 7, día 20 pos IATF y la tasa de preñez, se encontró que a los 20 días pos inseminación existe diferencia significativa con mayor tamaño del cuerpo lúteo cuando se administra dos dosis de eCG (una previa a la ovulación y la otra a los 14 días de la IATF) con un 60 % de preñez.

Con los resultados obtenidos a la aplicación del protocolo J-Synch, Bo et al. (2018) propusieron que las vaquillonas que manifiestan celo antes de las 60 horas de retirado el dispositivo intravaginal, podrían ser inseminadas antes sin afectar la preñez, pero que sería necesario determinar el tiempo óptimo para la IATF en aquellos que no mostrarían celo. La incorporación de protocolos con proestro prolongado en condiciones extremas, ha permitido mejorar los porcentajes de

concepción tanto en vacas lecheras, anéstricas y con períodos abiertos extensos en climas tropicales. Sin embargo, el protocolo J-Synch aún es necesario seguir validándolo en otras condiciones ambientales (Amazonía Ecuatoriana). Así, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la eCG sobre la expresión de celo, el momento de la ovulación, diámetro del folículo preovulatorio y tasa de preñez en vacas Holstein tratadas con un protocolo de proestro prolongado.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en la Provincia de Pastaza - Ecuador, desde octubre del 2018 a octubre del 2019. Presenta una precipitación fluvial de 4000 a 5000 mm/año, el clima es cálido y húmedo con una temperatura que varía entre los 18 y 24°C. Además, cuenta con una topografía irregular, fincas con un área promedio de 50 ha, conformadas por pastizales propios de la zona (Gramalote; *Axonopus scoparius*), y pequeñas parcelas agrícolas (González Marcillo et al., 1997).

Se utilizaron 306 vacas en producción con cría al pie, de la raza Holstein, alimentadas mediante un sistema de pastoreo al sogueo (Carrera Durazno et al., 2015) con una producción promedio de 8±1,5 litros de leche por vaca/día en un solo ordeño, con 90 a 150 días de paridas, multíparas con una edad de entre 34 y 65 meses, condición corporal de 2.5 a 3 (escala 1 al 5) (Edmonson y Lean, 1989) y con un peso vivo de entre 400 y 450 Kg.

### Tratamientos

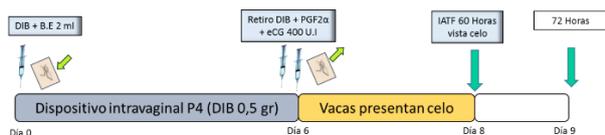
Se utilizó el protocolo de sincronización de celos con proestro prolongado denominado J-Synch (de la Mata et al., 2012) al cual se modifica adicionando eCG y realizando la IATF a las 60 y 72 horas de retirado el dispositivo intravaginal. Para lo cual al total de vacas se dividió aleatoriamente en dos grupos: Grupo 1 con adición de eCG y Grupo 2 sin eCG. A su vez estos dos grupos se subdividieron en dos grupos más, uno que se realiza IATF a las 60 horas y otro la IATF a las 72 horas de haber retirado el dispositivo intravaginal. Esquemáticamente representado.

T1: J - Synch + eCG + Celos - IA 60 horas (n=92)  
 T2: J - Synch + eCG + Sin Celos + GnRH - IATF 72 horas (n=61)  
 T3: J - Synch + Celos - IA 60 horas (n=70)  
 T4: J - Synch+ Sin Celos + GnRH - IATF 72 Horas (n=83)

La distribución de los tratamientos (T) fue completamente al azar, en cada uno se realizaron cuatro repeticiones (T1: 23, 23, 23 y 23 (92), T2: 16, 15, 15 y 15 (61), T3: 18, 18, 17 y 17 (70) T4: 21, 21, 21 y 20 (83) vacas con cada uno de los tratamientos).

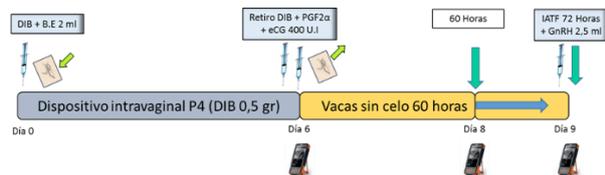
Para el desarrollo de la investigación, en el día 0 a cada una de las 306 vacas se realizó una primera evaluación reproductiva mediante ultrasonografía para analizar el estatus ovárico y que todos los animales cumplan con los parámetros propuestos para poder ser incluidas en la presente investigación, adicionalmente se le colocó un dispositivo intravaginal con progesterona (DIB 0.5 gr) más la aplicación de 2 mg de BE por vía IM; al día 6 las vacas se dividen en grupos según los tratamientos así:

**TRATAMIENTO 1 (T1):** al día seis, a las vacas se les retiró el dispositivo intravaginal con progesterona, y se les administró PGF2 $\alpha$  (500 $\mu$ g de Cloprostenol), más eCG 400 U.I, se realizó una medición mediante ultrasonografía para determinar el desarrollo folicular, se aplicó un marcador de pintura en la base de la cola para observar la presencia o ausencia de celo el mismo que se efectuó tres veces por día (en la mañana, medio día y tarde), las vacas que presentaron celo hasta que se cumplieron las 60 horas desde que se retiró el dispositivo se inseminaron artificialmente en ese tiempo, además que se realizó ultrasonografía para determinar el diámetro del folículo preovulatorio.



**Figura 1.** J-Synch + eCG + IATF (60 Horas). B.E (2 mg benzoato de estradiol), PGF2 $\alpha$  prostaglandina (500  $\mu$ g cloprostenol), GnRH (100  $\mu$ g acetato de gonadorelina), eCG (400 U.I gonadotropina coriónica equina), IATF (inseminación artificial a tiempo fijo), DIB 0.5 gr (Dispositivo intravaginal de progesterona 500 mg).

**TRATAMIENTO 2 (T2):** Del grupo de vacas del (T1) que no presentaron celo hasta las 60 horas de retirado el dispositivo intravaginal, se las realizó ultrasonografía para valorar el diámetro del folículo dominante y al día 9 (72 horas después de retirado el dispositivo intravaginal) se efectuó la IATF con la aplicación al mismo tiempo de GnRH (2.5 ml/vaca), de la misma manera se continua con la medición del folículo preovulatorio con ultrasonografía para ver el comportamiento de los mismos con un proestro prolongado.



**Figura 2.** J-Synch + eCG + IATF (72 Horas). B.E (2 mg benzoato de estradiol), PGF2 $\alpha$  prostaglandina (500  $\mu$ g cloprostenol), GnRH (100  $\mu$ g acetato de gonadorelina), eCG (400 U.I gonadotropina coriónica equina), IATF (inseminación artificial a tiempo fijo), DIB 0.5 gr (Dispositivo intravaginal de progesterona 500 mg).

**TRATAMIENTO 3 (T3):** al día seis, se le retiró el dispositivo intravaginal con progesterona, se administró PGF2 $\alpha$  (500 $\mu$ g de Cloprostenol) y a este grupo no se aplicó eCG, seguidamente se realizó una medición mediante ultrasonografía para determinar el desarrollo folicular, se aplicó un marcador de pintura en la base de la cola para observar la presencia o ausencia de celo, se efectuó tres veces por día (en la mañana, medio día y tarde), las vacas que presentaron celo hasta que se cumplió las 60 horas desde que se retiró el dispositivo intravaginal se inseminaron artificialmente en este tiempo, además que se realizó ultrasonografía para determinar el diámetro del folículo preovulatorio.



**Figura 3.** J-Synch + IATF (60 horas).B.E (2 mg benzoato de estradiol), PGF2 $\alpha$  prostaglandina (500  $\mu$ g cloprostenol), GnRH (100  $\mu$ g acetato de gonadorelina), IATF (inseminación artificial a tiempo fijo), DIB 0.5 gr (Dispositivo intravaginal de progesterona 500 mg).

**TRATAMIENTO 4 (T4):** Del grupo de vacas del (T3) que no presentaron celo, hasta las 60 horas de retirado el dispositivo intravaginal, se las realizó ultrasonografía para valorar el diámetro del folículo dominante y al día 9 (72 horas después de retirado el dispositivo intravaginal) se efectuó la IATF con la aplicación al mismo tiempo de GnRH (2.5 ml/vaca), de la misma manera se continua con la medición del folículo preovulatorio con ultrasonografía para ver el comportamiento de los mismos con un proestro prolongado.



**Figura 4.** J-Synch + IATF (72 horas). B.E (2 mg benzoato de estradiol), PGF2 $\alpha$  prostaglandina (500  $\mu$ g cloprostenol), GnRH (100  $\mu$ g acetato de gonadorelina), IATF (inseminación artificial a tiempo fijo), DIB 0.5 gr (Dispositivo intravaginal de progesterona 500 mg).

Para la IATF se utilizó semen congelado/descongelado utilizando la técnica descripta por Bernardi et al. (2011), de un solo toro, de fertilidad probada, aunque igualmente antes de utilizarlo se analizó y fueron inseminadas por un mismo técnico.

Los celos fueron observados a partir de las 24 horas después del retiro del dispositivo intravaginal (por la mañana, medio día y tarde) de los días 7, 8 y 9; considerando vaca en estro, por medio de pérdida de la pintura de la base de la cola y presencia de flujo vaginal cristalino (clara de huevo) en momentos previos a la ecografía e IATF.

#### Dinámica Folicular y luteal

Para evaluar el desarrollo folicular se usó ultrasonografía, en el día seis al retiro del dispositivo intravaginal bovino de progesterona, al momento de la IATF (60 y 72 horas de retirado el implante intravaginal de progesterona) con la finalidad de realizar un seguimiento a la dinámica folicular y al finalizar el estro. También, al día siete, post – inseminación se midió a través de ecografía el tamaño de cuerpo lúteo, para ello siempre se tomaron dos medidas (alto – ancho en mm) de cada estructura (cuerpo lúteo o folículo) 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 esto se hizo en un grupo

menor de animales (T1 y T2 = 26; T3 y T4 = 18, esto se debió a las dificultades para acceder o permanecer en diferentes horarios en los establecimientos privados utilizados), para ello se realizó una ecografía a 12 horas posterior de la IATF, luego a los animales que aún no habían registrado ovulación 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.

El diagnóstico de gestación se determinó por medio de ultrasonografía a los 35 a 40 días posterior a la IATF (Ibex Pro and Lyte ®, USA, with a linear probe of 5.0 MHz)

#### Variables analizadas

En la realización de este estudio se analizaron las siguientes variables:

- Detección de celos (presencia o ausencia)
- Desarrollo folicular en mm
- Momento de la ovulación (horas).
- Tamaño de cuerpo lúteo posovulación en mm
- Concepción (presencia o ausencia)

#### Análisis estadístico.

Para cada variable estudiada se estimaron la media aritmética 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 ( $P \leq 0,05$ ). Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa JMP program Statistical Discovery From SAS (JMP ®, 2003) in its version 5.0 for Windows.

## RESULTADOS

#### Tasa de concepción

Sin tener en cuenta los tratamientos utilizados de las 306 vacas inseminadas, 155 vacas se preñaron representando el 50.7% y 151 vacas resultaron vacías el 49.3 %.

**Tabla 1.** Tasa de preñez en protocolo J-Synch con y sin eCG

Protocolo	n	Preñadas	% Preñez
J-Synch con eCG	153	88	57.5 <sup>a</sup>
J-Synch sin eCG	153	67	43.8 <sup>b</sup>

Superíndices distintos indican diferencias significativas ( $P \leq 0.01$ ).

En la Tabla 2 se muestra la tasa de preñez de los protocolos T1, T2, T3 y T4. Aunque no son significativos, se observa una tendencia de una mejor tasa de preñez de los protocolos T1 y T2.

**Tabla 2.** Tasa de preñez en vacas lecheras Holstein, sometidas a protocolo J-Synch con y sin eCG y IATF a las 60 y 72 horas.

Grupo	n	Preñados	% Preñez
T1	92	55	59.8
T2	61	33	54.1
T3	70	33	47.1
T4	83	34	41.0
Total	306	155	50.7

Los resultados no difieren significativamente ( $P=0.0779$ )

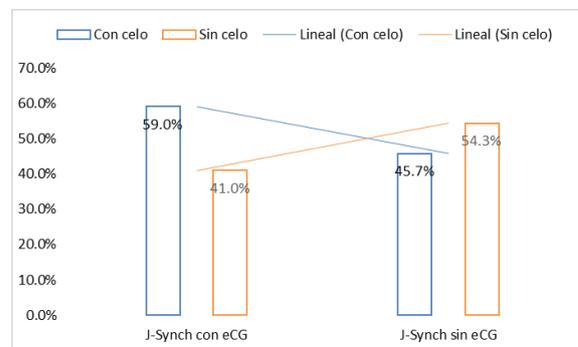
Existió un 52.3% (162/306) de presencia de celo del total de animales para ambos tratamientos con o sin eCG.

**Tabla 3.** Presencia de celo en vacas lecheras sometidas al tratamiento J-Synch con eCG y sin eCG

Tratamientos	n	Animales en celo	Tasa de celo (%)
J-Synch con eCG	153	92	59.0
J-Synch sin eCG	153	70	45.7
TOTAL	306	162	53.0

Los resultados no difieren significativamente ( $P \leq 0.05$ ).

De las vacas que manifestaron celo, la tasa de preñez en las vacas del grupo J-Synch con eCG y IATF a las 60 horas fue del 59.8% (55/92) vs las sin eCG 47.1% (33/70;  $P > 0.05$ ). Así mismo las vacas sin presencia de celo y que recibieron IATF a las 72 horas la tasa de preñez fue del 48.5% (33/68) para las con eCG y 41.0% (34/83) para las sin eCG ( $P > 0.05$ ).



**Figura 5.** Presencia de celo en vacas sometidas a protocolo J-Synch con y sin eCG. Los resultados no difieren significativamente ( $P > 0,05$ ).

#### Dinámica folicular (al momento del retiro del dispositivo y al momento de la inseminación artificial)

El tamaño del foliculo 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.

**Tabla 4.** Promedios y errores estándar del tamaño del folículo (mm) al retiro del dispositivo de progesterona y al momento de la inseminación artificial en vacas multíparas Holstein

Tratamiento / Momento	Tamaño del folículo en (mm)	
	Al retiro del dispositivo	A la inseminación artificial
T1	9.5±0.1 <sup>a</sup>	11.8±0.1 <sup>a</sup>
T2	9.6±0.1 <sup>a</sup>	11.2±0.1 <sup>b</sup>
T3	9.7±0.1 <sup>a</sup>	11.3±0.2 <sup>ab</sup>
T4	9.8±0.1 <sup>a</sup>	11.6±0.2 <sup>ab</sup>

Nota: letras diferentes por columna indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).

#### Momento de la ovulación

El intervalo medio de ovulación desde la remoción del dispositivo no fue significativamente diferente ( $P \geq 0,05$ ) para los cuatro tratamientos T1:  $106 \pm 1,8$ ; T2:  $108 \pm 2$ ; T3:  $114 \pm 2,3$  y T4:  $114 \pm 2,3$  horas.

**Tabla 5.** Respuesta de ovulación en horas a partir del retiro del dispositivo intravaginal, según tratamiento

Trat.	n	Ovulación		
		≤ 96 horas (n, %)	96-108 horas (n, %)	> 108 horas (n, %)
T1	18	4 22.0	12 67.0	2 11.0
T2	14	2 14.0	9 64.0	3 21.0
T3	10	1 10.0	3 30.0	6 60.0
T4	10	0 0.0	5 50.0	5 50.0
<b>TOTAL</b>		<b>11.5</b>	<b>52.7</b>	<b>35.5</b>

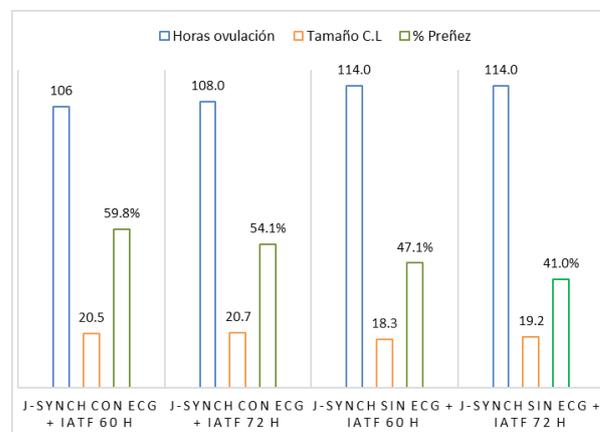
Tamaño del cuerpo lúteo a los siete días post inseminación. El diámetro cuerpo lúteo medido al día 7, difirió significativamente entre tratamiento ( $p \leq 0,001$ ) (T1:  $20,5 \pm 0,2$  mm; T2:  $20,7 \pm 0,2$  mm; T3:  $18,3 \pm 0,6$  mm y T4:  $19,2 \pm 0,4$  mm).

**Tabla 6.** Tamaño del cuerpo lúteo (mm) siete días pos IATF, en vacas lecheras sometidas a un protocolo J-Synch con y sin eCG, IATF a las 60 y 72 horas.

Tratamientos	Número animales	Diámetro C.L (mm)
J-Synch con eCG y IATF 60 h	92	$20,5 \pm 0,2^{ab}$
J-Synch con eCG y IATF 72 h	61	$20,7 \pm 0,2^a$
J-Synch sin eCG y IATF 60 h	70	$18,3 \pm 0,6^c$
J-Synch sin eCG y IATF 72 h	83	$19,2 \pm 0,4^{bc}$
<b>TOTAL</b>	<b>306</b>	<b><math>19,7 \pm 0,4</math></b>

Nota: El diámetro del C.L difirió significativamente entre tratamientos ( $p \leq 0,001$ ).

En la Figura 6 se observa la combinación de las horas hasta la ovulación de cada tratamiento, el diámetro del cuerpo lúteo y el porcentaje de preñez. Notando que el T1 posee la menor cantidad de horas a la ovulación y el porcentaje de preñez mayor.

**Figura 6.** Horas de ovulación, diámetro del cuerpo lúteo y porcentaje de preñez en vacas lecheras sometidas a protocolo J-Synch con y sin eCG + IATF 60 y 72 horas

#### DISCUSIÓN

El tratamiento J-Synch con eCG presentó en este estudio en vacas para leche en la Amazonía Ecuatoriana una tasa de concepción del 57.5% de preñez y un 43.8 % de preñez el tratamiento J-Synch sin eCG. No existen investigaciones similares en la zona, sin embargo los datos hallados se podrían contrastar con los encontrados por Ortiz et al. (2017) en donde un estudio con protocolo convencional más eCG en vacas lecheras el porcentaje de preñez no superó el 47.5%; de la misma manera estudios realizados en la Amazonía con protocolo de proestro prolongado pero en vacas doble propósito llevado a cabo por Yáñez et al. (2018) y López, (2017) obtuvieron valores diferentes en la tasa de preñez 61 y 59.4% respectivamente.

En otra zona del país, específicamente en la sierra ecuatoriana, un estudio realizado por Ruiz, (2017), con protocolo J-Synch en vacas lecheras sin eCG presentó valores de 37.5 % de preñez, valor por debajo del encontrado en este trabajo. Ré et al. (2018) en un estudio utilizando el tratamiento J-Synch en vaquillonas lecheras encontraron un 63.6% de preñez. Resultados similares mostraron Menchaca et al. (2017) donde revelaron que es posible aplicar el protocolo J-Synch en vacas con anestro posparto y destete precoz, y obtener resultados aceptables en tasa de preñez (62.5%) realizando la IATF entre las 60 y 72 horas con respuestas similares entre ambos momentos del servicio. Lo que se puede observar, teniendo en cuenta los lugares y protocolos, es que existe un rango de tasa de preñez que ronde cerca del óptimo biológico del 50%, a excepción del trabajo de la sierra ecuatoriana.

En relación con la expresión del celo se visualiza que el 59% de vacas sometidas al protocolo J-Synch con eCG presentan celo, por el contrario, para el tratamiento J-Synch sin eCG el 45.7% de vacas presentan celo, dichos datos contrastan con los reportados por Yáñez et al, (2018) quién reporta datos en vacas Brown Swiss con protocolo J-Synch con eCG en la

Amazonía que el 70.8% de las vacas presentaron celo. Y a su vez estos datos contrastan con los reportados por López (2017) quien muestra que el 78.2% de vacas Pardo Suizo mestizas presentan celo al ser tratadas con el protocolo J-Synch en la Amazonía con un régimen alimenticio en pastoreo libre. Más allá, que los trabajos comparados son con diferentes razas, aunque realizados en el mismo ambiente; una de las explicaciones del bajo porcentaje de expresión del celo en las vacas lecheras podría ser que particularmente estas vacas al estar atadas individualmente en espacios reducidos, no pueden expresar los síntomas previos del inicio del celo (grupo sexualmente activo), como es el roce y juego entre las vacas tratadas, no pueden montarse entre ellas, por consiguiente la detección del celo se reduce a la observación subjetiva por parte del vaquero de otros síntomas menos expresivos. No obstante, resultados diferentes presentó Tschopp, (2016) de un experimento evaluando el efecto de la expresión de celos y la adición de GnRH sobre la tasa preñez en vacas Holando en lactancia sincronizadas con estradiol y dispositivos con progesterona, así del total de animales, el 62.0% presentó celo dentro de las 48 horas de retirado el dispositivo intravaginal. Datos numéricamente inferiores a los reportados en la Amazonía presentó Mendes (2018) quien trabajó con vaquillonas tipo carne evaluando el protocolo J-Synch normal y un J-Synch modificado en un segundo grupo. Al analizar la expresión de celo a las 66 horas de retirado los dispositivos no se encontraron diferencias significativas entre los grupos. Se observó que las vaquillonas del Grupo J-Synch normal 45/129 (35%) mostraron celo y fueron inseminadas en ese mismo momento, mientras que las vaquillonas del Grupo J-Synch modificado lo hicieron 108/128 (84%;  $P \geq 0,05$ ). Al Día 9, se observaron 19 vaquillonas más en celo del Grupo J-Synch normal, logrando un 49% de celo (64/129) acumulado; mientras que 12 vaquillonas del Grupo J-Synch modificado entraron en celo logrando un 93% de celo (120/128) acumulado.

La dinámica folicular del presente estudio detalló que el tamaño del folículo al retiro del dispositivo de progesterona (día 6) no mostró diferencias significativas ( $P \geq 0,05$ ), mientras que el tamaño del folículo al momento de la inseminación artificial a tiempo fijo expresó diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) con un mayor diámetro para J-Synch + eCG + Celos a 60 horas midiendo  $11.8 \pm 0.1$  mm. Yáñez et al., (2018) en su estudio expuso que el tamaño del folículo al retiro del dispositivo de progesterona para J-Synch con eCG 60 horas fue  $9.53 \pm 0.11$  mm y para J-Synch con eCG 72 h de  $9.87 \pm 0.12$  mm, mientras que, a la IATF para J-Synch con eCG 60 horas fue  $12,3 \pm 0,12$  mm y para J-Synch con eCG 72 h de  $11.9 \pm 0.12$  mm, sin mostrar diferencias significativa. Ortiz et al. (2017) en el estudio con protocolo convencional (DIB+BE+PG+ IATF 52- 56 horas) en vacas lecheras en la Amazonía, mostró que el tamaño de folículo preovulatorio a la IATF el T1 presenta el mayor diámetro con 15.86 mm, sin mostrar diferencias estadísticas entre tratamientos ( $P > 0,05$ ). En otra región del mundo Re (2018) utilizando vaquillonas lecheras evaluó los tratamientos grupo1 J-Synch  $n = 20$  (DIB 0.5 gr y GnRH 56 horas), grupo2 J-Synch  $n = 20$  (DIB 1.0 gr y GnRH 56 horas), grupo3 J-Synch  $n = 20$  (DIB 0.5 gr y GnRH 72 horas), grupo4 J-Synch  $n = 20$  (DIB 1.0 gr y GnRH 72 horas) el diámetro del folículo ovulatorio al retiro del dispositivo fue mayor en el 1 grupo con 7.7 mm, el diámetro del folículo ovulatorio a la IATF fue mayor para 4 grupo con 13.4 mm mostrando diferencias estadísticas entre los tratamientos

( $P < 0,05$ ). Andringa et al. (2013) evaluando vacas Holstein, obtuvo  $16.2 \pm 1.7$  mm como diámetro máximo del folículo preovulatorio. A diferencia de los datos encontrados por (Ludueña y Molfino, 2013) en vacas Holstein de una lechería comercial, hallaron que el tamaño del folículo dominante al retiro del dispositivo fue de 13.7 mm en las vacas que se preñaron y 12.7 mm en las vacías. Gamboa (2020) trabajó con vaquillas de la raza senepol en el trópico valorando el efecto de tres protocolos reportó diámetros del folículo preovulatorio de  $10.37 \pm 0.4$  mm;  $10.04 \pm 0$  mm y  $9.24 \pm 0.4$  mm, inferiores a los encontrados en la Amazonía. Menchaca et al. (2017) encontraron que el diámetro del folículo ovulatorio aumentó en la medida que se prolongó la duración del proestro. Sin embargo, Ospina y Ramos (2013) en vacas y novillas de raza Normando para leche, tratadas con un protocolo de IATF convencional, no tuvieron efecto positivo sobre el crecimiento folicular, y por el contrario presentaron disminuciones en las tasas de crecimiento de estos.

El momento de la ovulación para vacas lecheras de la raza Holstein en la Provincia de Pastaza desde la remoción del dispositivo (día 6) no fue significativamente diferente ( $P \geq 0,05$ ) para los tratamientos T1:  $106 \pm 1.8$ ; T2:  $108 \pm 2$ ; T3:  $114 \pm 2.3$  y T4:  $114 \pm 2.3$  horas. Estos valores son mayores si se los compara con datos mostrados por Yáñez et al., (2018) en vacas doble propósito de Pastaza, cuyo horario medio de ovulación para J-Synch con eCG a las 60 y 72 horas fue de  $94.5 \pm 0.9$  horas y para J-Synch sin eCG a las 60 y 72 horas fue de  $88.0 \pm 1.1$  horas. Diferencias que probablemente se deban a muchos factores físicos ambientales extremos y propios del animal que no se puede controlar dentro del estudio, uno de ellos es el estrés calórico que afecta con mayor intensidad a vacas de la raza Holstein para leche. Datos que se asemejan a los encontrados en la Amazonía, Re (2018) con vacas de primer parto Holstein, reportó un promedio de ovulación más largo con  $103.8 \pm 3.0$  horas, y superiores reportados por Andringa et al., (2013) donde las vacas estudiadas ovularon en promedio a las  $40.1 \pm 10.9$  horas pos celo, con un rango que fue desde las 20 a 68 horas, también a los mostrados (Ludueña y Molfino, 2013) con ovulaciones antes  $63.3 \pm 2.1$  horas, mientras que vacas que no presentaron celo hasta las 48 horas ovularon en promedio  $75.7 \pm 1.2$  horas.

Los valores de horas en que produce la ovulación en vacas lecheras en la Amazonía son en este trabajo los primeros en obtenerse, será necesario seguir evaluándolas para saber si estos valores son puntuales a este trabajo o de comportamiento general para las vacas lecheras en este ambiente.

En referencia a la variable diámetro del cuerpo lúteo, en el estudio realizado en vacas lecheras en la Provincia de Pastaza se visualiza que el diámetro del cuerpo lúteo medido al día 7 pos IATF, difirió significativamente entre los tratamientos ( $P \leq 0,001$ ) T1:  $20.5 \pm 0.2$  mm; T2:  $20.7 \pm 0.2$  mm; T3:  $18.3 \pm 0.6$  mm y T4:  $19.2 \pm 0.4$  mm) datos que se asemejan a los reportados por Ortiz et al., (2017) quien reporta que mayor diámetro alcanza el protocolo convencional aplicando eCG al día 8 y 14 del protocolo con un valor de 21.9 mm, mostrando diferencias estadísticas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ). En el estudio realizado por Ruiz, (2017) en vacas lecheras revela que el tamaño de cuerpo lúteo fue mayor para el tratamiento (J-Synch sin AVAILA 4®) alcanzando los 22.9 mm al día 30 pos IATF, concluyendo que los tratamientos difieren

estadísticamente ( $P < 0.05$ ), aunque no fue medido al día 7 pero muestra similitud con nuestro estudio en cuanto al rango se refiere. Yáñez et al., (2018) en su experimento desarrollado en vacas doble propósito reporta que el diámetro del cuerpo lúteo medido al día 7 pos IATF, no difirió significativamente entre tratamientos ( $p > 0.05$ ) T1: J-Synch con eCG IATF 60 horas C.L=  $23.1 \pm 0.14$ mm; T2: J-Synch con eCG IATF 72 horas C.L=  $22.8 \pm 0.15$ mm, datos que superan a los valores reportados en nuestro estudio.

## CONCLUSIÓN

Para este grupo de vacas y con el sistema de producción utilizado se podrían manipular indistintamente cualquiera de los tratamientos evaluados. Aunque, mostraría una tendencia de mejor tasa de preñez el tratamiento J-Synch con eCG y IA 60 horas.

## CÓDIGO DE ÉTICA

Los autores declaran que el estudio presentado se ha llevado a cabo de acuerdo con el Código de Ética para los experimentos con animales, tal y como se refleja en la normativa:

[http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/legislation\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm).

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores firmantes del presente trabajo de investigación declaran no tener ningún potencial conflicto de interés personal o económico con otras personas u organizaciones que puedan influir indebidamente con el presente manuscrito.

## CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

Preparación y ejecución: OC, M Desarrollo de la metodología: OC, LP, M Concepción y diseño: OC, LP, MPR Edición del artículo: OC, LP, M Supervisión del estudio: LP, M

## REFERENCIAS

- Andringa FA, Cavestany D, Eerdenburg CM. Relaciones entre la expresión de celo, tamaño del folículo y ovulación en vacas de leche en pastoreo. *Veterinaria Montevideo*. 2013; 49(190): 4-15. Disponible: <http://revistasmvu.com.uy/index.php/smvu/article/view/221>
- Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bó GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science*. 2004; 82-83: 479-486.
- Bernardi SR, Allende R, Mazeo J, Marini PR. Evaluación de los cambios ocasionados en espermatozoides bovinos por variaciones en el manejo de las dosis durante su manipulación en inseminación artificial. *In Vet*. 2011; 13(2):25-39.
- Binelli M, Pugliesi G, de Oliveira Santana Batista E, Martins T, Lopes E, Sponchiado M, Gonella A, Oliveira M, Rodrigues M, de Oliveira Cardoso B, Piffero B, Souza Gomes N, Latorraca L, Cuellar F. Programação da receptividade uterina e fertilidade em vacas de corte. *Rev Bras Reprod Anim*. 2017; 41:121-129.
- Bridges GA, Helser LA, Grum DE, Mussard ML, Gasser CL, Day ML. Decreasing the interval between GnRH and PGF2a from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology*. 2008; 69:843-51.
- Bó GA, Huguenine E, de la Mata J, Núñez-Olivera R, Baruselli P, Menchaca A. Programs for fixed-time artificial insemination in South American beef cattle. *Proceedings of the 10th International Ruminant Reproduction Symposium (IRRS 2018)*; Foz do Iguaçu, PR, Brazil, September 16th to 20th, 2018. (Suppl.1), 2018; p.952-962
- Carrera Durazno R, Fierro N, Ordoñez J. Manual del pastoreo. Universidad Técnica particular de Loja. 2015; pp 17.
- Day ML. State of the art of GnRH-based timed AI in beef cattle. *Anim Reprod*. 2015; 12:473-8.
- De la Mata JJ, Bó GA. Sincronización de Celos y Ovulación Utilizando Protocolos de Benzoato de Estradiol y GnRH en Períodos Reducidos de Inserción de un Dispositivo con Progesterona en Vaquillonas para Carne. *Taurus*. 2012; 55: 17 - 23.
- De la Mata JJ, de la Mata CA, Bó GA. 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*. 2013b; p 308.
- Edmonson AJ, Lean IJ. A body condition scoring chart for Holando dairy cows. *Tulare 93274. Journal of Dairy Science*. 1989; 72: 68-78.
- Gamboa H. Evaluación de tres protocolos de sincronización para inseminación artificial a tiempo fijo en la respuesta reproductiva de vaquillas senepol. Informe de investigación previa la obtención del título de magister en zootécnica mención producción animal. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí. 2020. Disponible: <http://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1241/1/TTMZ6.pdf>
- Garnica P. Efecto de la Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) en la ovulación con protocolos de IATF en vacas Holstein posparto. Tesis para la obtención de título de Magister en Reproducción Animal. Universidad de Cuenca. 2012. Disponible: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/2419>
- González- Marcillo R, Anzúles SA, Vera ZA, Riera BL. Manual de pastos tropicales para la Amazonía ecuatoriana Napo Ecuador. INIAP. Manual no. 33. Programa de Ganadería Bovina y Pastos. 1997. Disponible: <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/2432>
- Guáqueta MH, Zambrano VJ, Jiménez EC. Factores que afectan la reactivación ovárica postparto en vacas Holstein, en el trópico alto. *Revista MVZ Córdoba*. Vol. 19 Issue1. 2014; p3970-3983. 14p.
- Kastelic JP, Bergfeldt DR, Ginther OJ. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and

- plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology*. 1990; 33: 1269-1278.
- López JC. Comparación de protocolos de IATF convencionales con un protocolo con proestro prolongado en vacas doble propósito en la Amazonía ecuatoriana. Tesis para la obtención de título de Magister en Reproducción Animal. Universidad Nacional de Córdoba. Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC). 2017. Disponible: <http://www.iracbiogen.com/admin/biblioteca/documentos/TESIS%20FIAL%20MAESTRIA-%20REVICION%20EVALUADORES%203%20-%20version%20final.pdf>.
  - Ludueña M, Molfino P. Relación del tamaño folicular y presencia de celo previo a la IATF 48 y 56 horas del retiro de dispositivos en la concepción de vacas Holando. Trabajo previo a la obtención del título Especialista en Reproducción Bovina. Universidad Nacional de Córdoba. 2013. Disponible: <http://www.iracbiogen.com.ar/admin/biblioteca/documentos/Molfino-Ludueña.pdf>
  - Madsen CA, Perry GA, Mogck CL, Daly RF, MacNeil MD, Geary TW. Effects of pre-ovulatory estradiol on embryo survival and pregnancy establishment in beef cows. *Anim Reprod Sci*. 2015; 158:96–103.
  - Mendes G. Comparación de dos protocolos de sincronización de celos con proestro prolongado utilizando distintos inductores de ovulación en vaquillonas Aberdeen Angus. Trabajo final para optar al grado académico de Especialista en Reproducción bovina. Universidad Nacional de Córdoba. Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC). 2018. Disponible: <http://www.iracbiogen.com.ar/admin/biblioteca/documentos/trabajofinalespecializacion%20mendes%20gonzalo.pdf>
  - Menchaca A, Núñez-Olivera C, García-Pintos F, Cuadro D, Bosolasco F, Fabini S, Dura J, de la Mata J, Bó G. Efecto de la prolongación del proestro en la fertilidad de los programas de IATF. Resúmenes Simposio Internacional de Reproducción Animal Pabellón Argentino. Argentina. 2017; pp. 191-212.
  - Ospina CA, Ramos CA. Efecto de la gonadotropina coriónica equina (eCG), sobre el crecimiento del folículo preovulatorio y la tasa de preñez pos IATF, en vacas y novillas normando. Trabajo Final para optar al Título de Especialista en Reproducción Bovina. Universidad Nacional de Córdoba. Instituto de Reproducción Animal de Córdoba (IRAC). Colombia. 2013. Disponible: <http://www.iracbiogen.com.ar/admin/biblioteca/documentos/Ospina-Ramos.pdf>
  - Ortiz N, Ayala LE, Marini P R. 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*. 2017; 8: 49 - 51.
  - Piccinalli RL, Trinidad JA. Consideraciones higiénicas en el uso de dispositivos intravaginales para sincronizar celo en bovinos para carne. *Vet. Arg., Bs. As.* 2003; 20 (200):739-744
  - Quinteros E. Concentración plasmática de progesterona y tasa de preñez en vacas lecheras en lactancia tratadas con dispositivos intravaginales nuevos o de segundo uso en la cuenca lechera de Chiriquí - Panamá. Tesis Para obtener el Grado Académico de Magister en Reproducción Animal. Universidad Nacional de Córdoba. Instituto de Reproducción Animal de Córdoba. 2017. Disponible: <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/5982>
  - Re M. Tratamientos que prolongan el proestro usando estradiol y progesterona en vaquillas de leche. Tesis para obtener el grado académico de Magister en Reproducción bovina. Universidad Nacional de Córdoba. Instituto de Reproducción Animal de Córdoba.: 2018. Disponible: <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/6733>
  - Ruiz S. Efecto de la suplementación de minerales orgánicos como complemento a la aplicación de dos protocolos para IATF sobre la tasa de concepción en vacas lecheras. Trabajo de titulación previo a la obtención del título de ingeniero agropecuario. Escuela Superior Politécnica del Ejercito 2017. Disponible: <https://scholar.google.com.ec>
  - Tschopp J. Efecto de la expresión de celos y la adición de GnRH sobre la tasa preñez en vacas Holando argentino en lactancia sincronizadas con estradiol y dispositivos con progesterona. Tesis para obtener el Grado Académico de Magister en Reproducción Animal. Universidad Nacional de Córdoba. Instituto de Reproducción Animal de Córdoba (IRAC). 2016. Disponible: <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/3977/Tschopp>.
  - Yáñez D, López JC, Moyano JC, Quinteros R, Marini PR. Inseminación artificial a tiempo fijo en vacas con proestro prolongado de 60 y 72 horas. *Agronomía Mesoamericana*. 2018; 29 num.2:363 - 373.