



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA  
AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO  
DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA:**

**“EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE  
CELO EN VACAS MESTIZAS PARA LA IMPLANTACIÓN DE  
EMBRIONES CRIO-PRESERVADOS”**

**AUTOR: RODRIGUEZ COBEÑA, MICHAEL JOSETH**

**DIRECTOR: DR. VALDIVIEZO PLAZA, FÉLIX AGUSTIN**

**SANTO DOMINGO**

**2019**



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, **“EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELO EN VACAS MESTIZAS PARA LA IMPLANTACIÓN DE EMBRIONES CRIO-PRESERVADOS”**, realizado por el estudiante MICHAEL JOSETH RODRIGUEZ COBEÑA, ha sido revisado en su totalidad y analizado por el software anti-plagio, el mismo que cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por lo tanto me permito acreditarlo y autorizar al señor MICHAEL JOSETH RODRIGUEZ COBEÑA para que lo sustente públicamente.

Santo Domingo, 16 de Enero del 2019

DR. FELIX AGUSTIN VALDIVIESO PLAZA

**DIRECTOR**



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, MICHAEL JOSETH RODRIGUEZ COBEÑA, con cédula de identidad No 1313430983, declaro que este trabajo de titulación “**EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELO EN VACAS MESTIZAS PARA LA IMPLANTACIÓN DE EMBRIONES CRIO-PRESERVADOS**”, ha sido desarrollado considerando los métodos de investigación científica existente, así como también se han respetado los derechos intelectuales de terceros considerándose en las citas bibliográficas. Seguidamente declaro que este trabajo es de mi autoría y absoluta responsabilidad, en virtud de ello me declaro responsable del contenido técnico, autenticidad e importancia de la investigación antes mencionada.

Santo Domingo, 16 de Enero del 2019

MICHAEL JOSETH RODRIGUEZ COBEÑA

CC: 1313430983



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA

### AUTORIZACIÓN

Yo, Michael Joseth Rodríguez Cobeña, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar a la biblioteca Virtual de la institución el presente trabajo de titulación **“EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELO EN VACAS MESTIZAS PARA LA IMPLANTACIÓN DE EMBRIONES CRIO-PRESERVADOS”**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi autoría y absoluta responsabilidad.

Santo Domingo, 16 de Enero del 2019.

MICHAEL JOSETH RODRIGUEZ COBEÑA

CC: 1313430983

## **DEDICATORIA**

A mi familia, docentes y amigos, quienes me motivaron a seguir siempre firme y no desistir.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por permitirme ser parte de esta prestigiosa institución y culminar con éxito mi carrera profesional.

A mi director de Tesis, Dr. Félix Valdiviezo por permitirme formar parte de su equipo de investigación y llevar a término este trabajo.

Al Dr. Gelacio Gomez por estar presto a brindar la asesoría necesaria y poder mejorar el hato de la hacienda Zoila Luz.

Al Ingeniero Andrés Vargas por estar presto a colaborar durante la ejecución de este trabajo de investigación.

A mis padres, Jenny Cobeña y Gonzalo Rodríguez por brindarme su apoyo incondicional durante toda la carrera universitaria.

A mis hermanas, Liceth, Vanessa y Jessica por brindarme su apoyo y amistad incondicional.

## INDICE DE CONTENIDOS

<b>CERTIFICACION</b> .....	ii
<b>AUTORIA DE RESPONSABILIDAD</b> .....	iii
<b>AUTORIZACION</b> .....	iv
<b>DEDICATORIA</b> .....	v
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	vi
<b>INDICE DE CONTENIDOS</b> .....	vii
<b>INDICE DE CUADROS</b> .....	ix
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	x
<b>RESUMEN</b> .....	xi
<b>ABSTRACT</b> .....	xii
<b>CAPITULO I</b> .....	1
<b>PROBLEMA</b> .....	1
<b>1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	1
<b>1.2. ANTECEDENTES</b> .....	1
<b>1.3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	2
<b>1.4. Objetivos</b> .....	3
<b>1.4.1. Objetivo general</b> .....	3
<b>1.4.2. Objetivos específicos</b> .....	3
<b>1.5. Hipótesis</b> .....	3
<b>CAPITULO II</b> .....	4
<b>2.1. Introducción</b> .....	4
<b>2.2. Hormonas que intervienen en el ciclo Reproductivo</b> .....	5
<b>2.3. Descripción de la fase folicular del ciclo estral</b> .....	7
<b>2.5. Métodos de sincronización del estro en el ganado bovino</b> .....	9
<b>2.6. Alimentación y manejo de las receptoras</b> .....	10
<b>2.7. Sincronización de receptoras</b> .....	10
<b>CAPITULO III</b> .....	12
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	12
<b>3.1. Ubicación del lugar de la investigación</b> .....	12

3.1.1. Ubicación política .....	12
3.1.2. Ubicación geográfica .....	12
3.1.3. Ubicación ecológica .....	12
3.2. Materiales.....	13
3.2.1. Unidades experimentales .....	13
3.2.2. Materiales para sincronización de celo.....	13
3.2.3. Materiales para transferencia de embriones.....	13
3.2.4. Equipos.....	14
3.3. Métodos .....	14
3.4. Diseño experimental.....	15
3.4.1. Factores a probar .....	15
3.4.2. Tratamientos.....	15
3.4.3. Análisis estadístico.....	15
3.4.4. Variables a medir .....	15
3.5. Manejo del experimento .....	16
3.5.1. Preparación de receptoras.....	16
3.5.3. Transferencia embrionaria.....	17
<b>CAPITULO IV .....</b>	<b>19</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>19</b>
4.1. Porcentaje de celo (%) .....	19
4.2. Diámetro de cuerpo lúteo (mm) .....	20
4.3. Porcentaje de preñez en receptoras (%) .....	22
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>24</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>25</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>26</b>

**INDICE DE CUADROS**

Cuadro 1. Descripción de la fase folicular del ciclo estral bovino.....	8
Cuadro 2. Métodos de sincronización de estro en ganado bovino .....	9
Cuadro 3. Protocolo de sincronización de celo con progesterona (Protocolo-1) .....	17
Cuadro 4. Protocolo de sincronización de celo con prostaglandina (Protocolo-2) .....	17
Cuadro 5. Categorización del diámetro de cuerpos lúteos (mm) .....	21
Cuadro 6. Porcentaje de preñez en vacas receptoras post E.T. ....	22

**INDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Fases del ciclo estral en la hembra bovina y su regulación hormonal. ....	5
Figura 2. Promedio de estro en vacas receptoras sometido a dos protocolos de sincronización de celo. ....	19
Figura 3. Diámetro de cuerpo lúteo (cm) en vacas receptoras sometidas con dos protocolos Hormonales de sincronización de celo. ....	20

## RESUMEN

La transferencia de embriones crio-preservados en respuesta a dos protocolos de sincronización utilizando las hormonas progesterona (P4) y prostaglandina  $PGF_{2\alpha}$ , en ganado bovino se realizó en la hacienda Zoila Luz, propiedad de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, ambos protocolos se caracterizaron por el uso de diferentes hormonas, progesterona (P4) y prostaglandina ( $PGF_{2\alpha}$ ) en siete vacas mestizas Jersey cada uno; en el análisis estadístico se usó la prueba de “chi-cuadrado”, se hizo un manejo previo de las unidades experimentales que incluían desparasitación, control de enfermedades venéreas, vitaminas, minerales inyectables y sales minerales. Las variables que se midieron fueron: presencia de celo, diámetro de cuerpo lúteo, porcentaje de preñez. El diámetro de cuerpo lúteo se midió con el ecógrafo y una sonda transrectal. Para la variable porcentaje de celo, el valor de  $\chi^2=0,42$  y p-valor 0,51 se observó 92,86% vacas en celo y 7,14% aquellas que no respondieron en cada tratamiento respectivamente. El diámetro de cuerpo lúteo se obtuvo un p-valor 0,02 no se observó diferencia estadística significativa siendo el promedio de 2,16 (cm) con protocolo-1 y 2,1 (cm) con protocolo-2. En el Porcentaje de preñez el valor de chi-cuadrado fue  $\chi^2=0,31$  y p-valor de 0,57 por lo tanto se observó 28,5% de preñez con el protocolo-1 y 42,5% con el protocolo-2, por lo tanto para transferir embriones se recomienda el uso de prostaglandina como método de sincronización de celo.

## PALABRAS CLAVES

- **SINCRONIZACION**
- **TRANSFERENCIA EMBRIONARIA**
- **GESTACION**

### **ABSTRACT**

The transfer of cryopreserved embryos in response to two synchronization protocols using the hormones progesterone (P4) and prostaglandin PGF2 $\alpha$ , in cattle was carried out at the Zoila Luz farm, property of the Agricultural Engineering Career of the University of the Armed Forces ESPE, the two protocols were characterized by the use of different hormones, progesterone (P4) and prostaglandin (PGF2 $\alpha$ ) in seven Jersey mestizo cows each; in the statistical analysis, the "chi-square" test was used; previous management was done of the experimental units that included deworming, control of venereal diseases, vitamins, injectable minerals and mineral salts. The variables that were measured were: presence of estrus, corpus luteum diameter, percentage of pregnancy. The corpus luteum diameter was measured with the ultrasound and a transrectal probe. For the heat percentage variable, the value of  $\chi^2 = 0.42$  and p-value 0.51 was observed 92.86% cows in heat and 7.14% those that did not respond in each treatment respectively. The corpus luteum diameter was obtained a p-value of 0.02, no statistically significant difference was observed, with an average of 2.16 (cm) with protocol-1 and 2.1 (cm) with protocol-2. In the Percentage of pregnancy, the chi-square value was  $\chi^2 = 0.31$  and p-value of 0.57, therefore, 28.5% of pregnancy was observed with protocol-1 and 42.5% with protocol- 2.

### **KEYWORDS**

- SYNCHRONIZATION
- EMBRYO TRANSFER
- PREGNANCY

## **CAPITULO I**

### **PROBLEMA**

#### **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El problema a tratar en esta investigación es la ineficiencia reproductiva de las vacas, ya que deben transcurrir más días desde que la vaca pare (parto) hasta que presenta celo o estro (días abiertos). Las causas de este problema son mala nutrición de los animales, sanidad deficiente, baja calidad genética, poco o ningún manejo, altos costos reproductivos, pastoreo extensivo y semi-intensivo. Además el uso de técnicas reproductivas son limitadas debido a la falta de personal calificado haciendo inaccesible para pequeños, medianos y aún para grandes productores de ganado bovino. Esto se refleja en una baja producción y productividad de leche o carne, lento progreso genético del hato, decremento en la rentabilidad de la finca, reducción de nacimientos en el año.

#### **1.2. ANTECEDENTES**

La transferencia embrionaria se desarrolló a finales del siglo XIX e inicios del siglo XX, en el año 1930 se obtuvo el primer embrión bovino; esta técnica mostró interés comercial en la década de 1970 con la finalidad de aprovechar el mérito genético de animales que presentan características fenotípicas deseables en producción (Brito, 1999; Clement-Sengewald, Palma, & Brem, 2001).

La técnica de transferencia embrionaria consiste en implantar un embrión en fase de mórula en la hembra “receptora”, previamente obtenido de una reproductora “donante”, misma que se encargara de gestarlo y llevarlo al nacimiento. Este puede ser transferido en fresco o congelado (Velazco *et al.*, 2008).

El uso de técnicas reproductivas como superovulación y transferencia de embriones (TE), permite multiplicar y optimizar el potencial genético de una hembra donante aumentando su descendencia, fácil y rápida reproducción de especies en vía de extinción, y rápido transporte del material a lugares distantes. (Clement-Sengewald, Palma, & Brem, 2001).

En la actualidad los avances científicos referente al conocimiento de la fisiología reproductiva bovina y el desarrollo de hormonas sintéticas permiten la manipulación del ciclo estral a fin de lograr índices de preñez más altos en determinados periodos facilitando el uso masivo de la transferencia embrionaria como herramienta de mejora genética y mejoramiento genético de especies de interés comercial como los bovinos; además brindan la posibilidad de reproducir a animales que en circunstancias normales no podrían hacerlo (Colazo *et al.*,2007; Levi del Aguila, 2007) (Zulema del Rocio, 2010).

### **1.3. JUSTIFICACIÓN**

Para obtener animales de alto valor genético y producción de carne y leche, generalmente se logra mediante la importación de toros de otros países, pero esto implica un costo muy elevado. Una alternativa para obtener animales de alto mérito es mediante el uso de transferencia de embriones (TE); logrando acelerar el mejoramiento del ganado desde el lado materno, reduciendo el intervalo entre generaciones y acelerando el proceso de selección obteniendo una gran progenie de donadoras valiosas; esto permitirá aumentar la producción animal (Ponce, 2015; Avila, 2003).

En la actualidad se encuentran tecnologías disponibles para contribuir a mejorar los índices de productividad como la Inseminación artificial y la transferencia de embriones para la mejora genética de caracteres de interés zootécnico. Sin embargo el uso de estas técnicas son limitadas debido al alto costo que generan, así como el uso de materiales y equipos por personal calificado haciendo inaccesible para productores de bajos recursos económicos (Clement-Sengewald, Palma, & Brem, 2001).

Este proyecto de investigación consistió en evaluar la eficacia de dos protocolos de sincronización de celo en vacas mestizas (cruce Jersey) mediante implante de embriones crio-preservedos, cuyo fin es el de contribuir como alternativa al manejo reproductivo y mejora genética del ganado bovino.

## **1.4. Objetivos**

### **1.4.1. Objetivo general**

- Evaluar dos protocolos de sincronización de celo, en vacas mestizas para la implantación de embriones crío-preservados.

### **1.4.2. Objetivos específicos**

- Medir la eficacia de dos protocolos para sincronizar celo.
- Determinar el porcentaje (%) de preñez en vacas cruce Jersey bajo el efecto de dos protocolos de sincronización de celo para implantar embriones.
- Difundir los resultados de esta investigación con estudiantes afines

## **1.5. Hipótesis**

H0: El uso de protocolo: Progesterona (P4) y Prostaglandina disminuye el porcentaje (%) de preñez en las vacas.

Ha: El uso de protocolo: Progesterona (P4) y Prostaglandina incrementa el porcentaje (%) de preñez en las vacas.

## CAPITULO II

### 2.1. Introducción

La transferencia embrionaria se desarrolló a finales del siglo XIX e inicios del siglo XX, esta consiste en implantar un embrión en fase de mórula en la hembra “receptora”, previamente obtenido de una reproductora “donante”, con la transferencia de embriones se busca el mejoramiento genético de una ganadería a través del aprovechamiento de aquellos ejemplares de alto mérito sea en carne o en la producción de leche (Brito, 1999). En Ecuador esta técnica se comenzó a difundir en 1981 por medio de conferencias y en 1985 ya se tenían los primeros terneros nacidos por transferencia embrionaria (Gorfrey, 1991; Tríbulo *et al* 2000).

Dentro de un programa de transferencia de embriones se debe considerar aspectos generales del hato principalmente de las receptoras las que se encargaran de gestar al embrión transferido. Entre los parámetros a tomar en cuenta están los siguientes: nutrición de las receptoras, manejo, condición corporal, sanidad del animal, grupos sanguíneos, problemas reproductivos, estrés de las receptoras, calidad del embrión, chequeos ginecológicos, entre otros. Además aspectos como la genética, no es muy importantes, porque la receptora nos ayudará a gestar el embrión previamente obtenido de una donante con alto mérito genético (Gorfrey, 1991; Velazco *et al.*, 2008).

Esta técnica se puede usar en varias especies sean o no de interés comercial, además ha permitido desarrollar mellizos monocigotas y quimeras mediante combinación de mitades de embriones diferentes a través de microcirugía (Clement-Sengewald, Palma, & Brem, 2001).

Este método depende de la disponibilidad de embriones de buena calidad y el medio uterino propicio de la receptora al momento de la transferencia (sincronía) (Cordova, 2011). Por su complejidad, limitaciones técnicas y fisiológicas la transferencia de embriones no puede reemplazar a la inseminación artificial (IA). Por ende, sus propiedades utilizadas en animales seleccionados pueden ofrecer un medio de progreso a través de la utilización del mejor material genético (Brito, 1999; Rodríguez, 2017).

Con esta técnica se prevee:

- Aprovechar el genotipo y el potencial reproductivo de hembras muy valiosas.
- Utilizar los vientres de animales sanos y fuentes de escaso valor genético.
- Intercambiar material genético internacionalmente.
- Introducir rápidamente una raza no existente en un país.
- Obtener varias descendencias de un embrión, con lo que se logra obtener animales genéticamente idénticos.
- Formar hatos de vacas lecheras libres de leucosis (Cordova, 2011).

Una vez efectuada la transferencia del embrión, en las receptoras se vigila el no retorno del estro, mediante un análisis de progesterona en plasma. Finalmente, a los 60 días se efectúa la palpación transrectal (Cabodevila, 2001).

## 2.2. Hormonas que intervienen en el ciclo Reproductivo

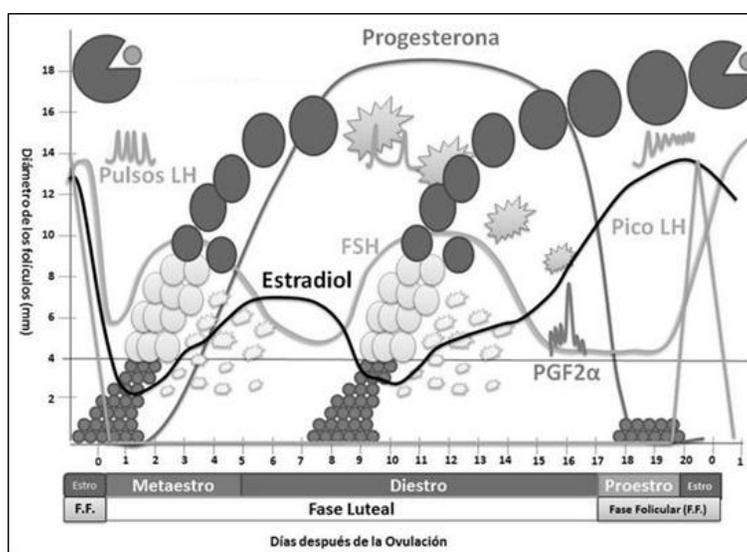


Figura 1. Fases del ciclo estral en la hembra bovina y su regulación hormonal.

Fuente: (Ruiz, 2016)

El ciclo reproductivo de la hembra bovina, está dividido en dos fases: Fase luteal y fase folicular. La primera está conformada por el metaestro que van desde el final del estro hasta el

día cinco y el diestro que comprende desde el final del metaestro hasta el día diecisiete. La fase folicular la componen el proestro inicia al final del diestro hasta el día veinte y el estro da inicio al nuevo ciclo estral manifestándose como el celo. Este ciclo en la hembra bovina está regulado por la secreción hormonal de las hormonas hipotalámicas (GnRH), hormonas hipofisarias: hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), hormonas ováricas: estrógenos producidas por el folículo y progesterona, producida por el cuerpo lúteo, así como por la secreción de prostaglandina a nivel del útero (Hafez & Hafez, 2002).

La GnRH, es sintetizada en las neuronas del hipotálamo y transportadas desde la eminencia media hipotalámica hasta la hipófisis anterior por el sistema portal hipotálamo-hipófisis. La FSH es secretada por la hipófisis y estimula el crecimiento y maduración de los folículos en el ovario, por lo tanto constituye el factor principal para estimular el desarrollo folicular en el ovario, esta hormona es sintetizada y secretada por la hipófisis anterior, promovida por la GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas) del hipotálamo (Hafez & Hafez, 2002).

Conforme se produce el crecimiento folicular, las células de la granulosa adquieren receptores para FSH y las células de la teca receptores para la LH, estimulando la producción de estrógenos, mediante un mecanismo de conversión del colesterol a andrógenos (androstenediona) en la células de la teca y es transportada a las células de la granulosa para ser convertida en estradiol en la células de la granulosa, mediante la acción enzimática de la aromatasa estimulado por la FSH (Senger, 2005; Sartori *et al.*, 2001).

La FSH por sí sola no provoca la secreción de estrógenos por lo que requiere la presencia de la LH. Posteriormente en un folículo preovulatorio, los estrógenos estimulan la producción de receptores para la LH en las células de la granulosa y pueden distinguirse receptores para FSH y LH en las células de la granulosa y receptores solo para LH en la teca, mecanismo necesario para la ovulación y posterior luteinización del folículo (Beg *et al.*, 2001; Knobill & Neill 1994; Niswender *et al.*, 2000).

Los cambios iniciales intrafoliculares, que diferencian a un folículo dominante (> 9 mm) del resto de folículos en crecimiento, son cambios relacionados con una mayor capacidad de

producir estrógenos (Henaó *et al.*, 2004; Austin *et al.*, 2001). El estradiol y el factor de crecimiento insulínico-1 (IGF-1), son factores intrafolículos de supervivencia, proporcionando capacidad de resistencia a la apoptosis a las células de la granulosa de un folículo en crecimiento, así como se asume que el IGF-II producido por las células de la teca, es el principal regulador del crecimiento del folículo antral en el bovino (Hafez & Hafez, 2002; Quirk *et al.*, 2004; Sartori *et al.* 2001).

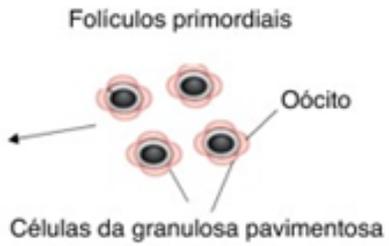
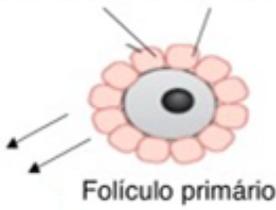
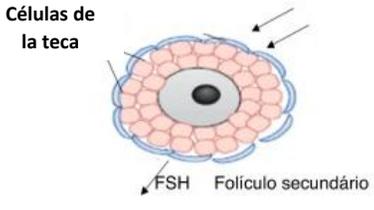
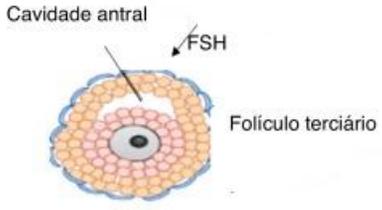
La presencia del Cuerpo Lúteo (CL) después de la ovulación, con capacidad de secretar progesterona, inhibe la secreción preovulatoria de LH, contribuyendo a la regresión del folículo dominante pero a su vez, se produce la emergencia de una nueva onda folicular (Hafez & Hafez, 2002). El crecimiento, desarrollo, maduración, ovulación y luteinización del folículo depende de patrones de secreción y concentraciones adecuadas de FSH y LH (Niswender *et al.*, 2000).

Durante el ciclo estral se producen cambios funcionales y estructurales en el ovario y el folículo; antes del momento del estro, el folículo dominante alcanza un gran tamaño y produce cantidades importantes de estrógenos hasta inducir el pico preovulatorio de la Hormona Luteinizante (LH); así mismo el crecimiento folicular durante el ciclo estral aparece como un mecanismo dependiente de un minucioso equilibrio neuroendocrino que involucra el eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónadas, cuyas hormonas regulan el crecimiento folicular, la ovulación y la duración del ciclo estral (Levi del Aguila, 2007; Henaó *et al.*, 2004; Hafez & Hafez, 2002).

### **2.3. Descripción de la fase folicular del ciclo estral**

Dentro de un ovario, los folículos se encuentran en diferentes estadios de desarrollo y han sido clasificados acorde al número de capas de células que rodean al oocito, así como por la presencia del antro. La clasificación más compleja divide a los folículos en:

Cuadro 1. Descripción de la fase folicular del ciclo estral bovino

Etapas de la fase folicular del ciclo estral	Descripción	Esquema grafico
Folículo primordial	En estos folículos el oocito se encuentra rodeado por una capa de células foliculares aplanadas, llamadas también células de epitelio folicular escamoso. El diámetro de los oocitos en la vaca varía entre 79 y 120 $\mu$ .	 <p>Folículos primordiais</p> <p>Oócito</p> <p>Células da granulosa pavimentosa</p>
Folículo primario	El oocito se encuentra rodeado por una simple capa de célula cuboidales o poliedricas. Este folículo, tiene un diámetro aproximado de 150 micras	 <p>Células da granulosa cúbicas</p> <p>Folículo primário</p>
Folículo secundario	El oocito está rodeado por varias capas de células poliedricas o cuboidales, momento en el cual, las células de la granulosa desarrollan receptores para FSH y estrógenos	 <p>Células de la teca</p> <p>FSH Folículo secundário</p>
Folículo terciario	El oocito está rodeado por varias capas de cellas granulosas y el antro folicular está formado. En vacas, la formación antral inicia cuando el folículo tiene un diámetro	 <p>Cavidade antral</p> <p>FSH</p> <p>Folículo terciário</p>

	aproximado de 0,5 mm	
Folículo de graff	Este tipo de folículo se forma como resultado de la acumulación de líquido folicular y hace que se extienda el antro, el oocito se ubica en la periferia del folículo y se rodea por una acumulación de células de la granulosa. Debido a su talla, el folículo grafiano maduro, emerge desde el ovario a la superficie en forma de ámpula	

Fuente: (Hafez & Hafez, 2002).

## 2.5. Métodos de sincronización del estro en el ganado bovino

La variación en la respuesta ovárica a los tratamientos hormonales para controlar el ciclo estral, es ampliamente atribuible al estado de desarrollo de la onda folicular al iniciar el tratamiento (Bo *et al.*, 1995), hasta la fecha los tratamientos diseñados para controlar el desarrollo de la onda folicular se basan en eliminar el efecto supresivo del folículo dominante ya sea por electro cauterización, ablación guiada con ecografía u hormonalmente: por medio de la GnRH, por estrógenos y progesterona, y de este modo inducir la emergencia de una nueva onda folicular en un tiempo específico del tratamiento (Bo *et al.*, 1995).

Cuadro 2. Métodos de sincronización de estro en ganado bovino

Método de sincronización	Descripción	Composición	Acción
Dispositivo intravaginal con progesterona	Dispositivo intravaginal para la regulación del	Progesterona activa 10%: 1,38 gramos	La progesterona es liberada y absorbida por la mucosa vaginal, inhibe la liberación de (LH) y (FSH).

	ciclo estral en vacas y vaquillonas.		
Gonadotropina coriónica equina (eCG)	Se la usa por su efecto LH y FSH	Polvo blanco cristalino liofilizado 500 UI.	La eCG tiene un efecto en los receptores de la granulosa y de la teca estimulando la secreción de estradiol y progesterona.
Prostaglandina (PGF <sub>2α</sub> )	Produce lisis del cuerpo lúteo	Contiene 0,25 mg de Cloprostenol sódico	Actúa sobre el cuerpo lúteo provocando una lisis que finaliza con la aparición del celo.

Fuente: (Colazo, Mapletoft, Martinez, & Kastelic, 2007)

## 2.6. Alimentación y manejo de las receptoras

La alimentación y manejo de las receptoras es menos delicado que de las donantes pero no se debe menospreciar en absoluto. Un aporte suficiente de minerales y vitaminas previo a la transferencia embrionaria es muy importante porque existe una estrecha relación entre la alimentación el manejo y el éxito en la implantación (Cabodevila, 2001). Los mejores resultados de transferencia se alcanzan, cuando receptoras (novillas) se mantienen en grupo sin sufrir cambio en el manejo. Cambios de establos traen consigo un estrés de adaptación, existe desequilibrio en el sistema, y cambios en la alimentación provocan alteraciones metabólicas (Brito, 1999).

## 2.7. Sincronización de receptoras

La transferencia de embriones puede efectuarse sobre celo natural o inducido. Hay que tener en cuenta que para obtener buenos resultados de preñez, el celo de la receptora debe tener una sincronización menor o igual a 24 horas (Rowson et al., 1972). En caso de administrar dosis de PGF<sub>2α</sub> a hembras seleccionadas por poseer cuerpo lúteo es necesario tener un número mayor de receptoras, ya que el diagnóstico de CL por palpación transrectal tiene una eficacia que varía entre 71 y 96% (Fortin, 1989; Díaz et al. (2012)

Toda novilla adulta desde el punto de vista sexual y sin patologías reproductivas, así como toda vaca sana y sin trastornos ginecológicos puede ser tomada como hembra receptora. (19- 23). Son ideales los animales jóvenes, bien conformados, hembras multíparas o lactantes energéticamente equilibradas. Por lo menos debe observarse un ciclo estral normal con anterioridad para que una hembra sea seleccionada como receptora (Cutini et al., 2000; Colazo et al., 2007). Animales con problemas de cubrición o de la lactación, son receptoras no satisfactorias. Otras consideraciones importantes son:

- Que el genotipo del embrión (el tamaño) no afecte al momento del nacimiento, las receptoras deben ser de un tamaño apropiado para parir con seguridad al feto.
- Debido al alto valor de la descendencia, normalmente las receptoras son manejadas intensamente, por lo cual se prefiere los animales con un temperamento tranquilo y así evitar lesiones al personal y/o a las crías.
- El instinto maternal y nivel de producción de leche son importantes si la descendencia va a ser criada por la receptora.
- Como receptora de un embrión de alta calidad genético-productivo, se debe seleccionar un animal sano con las mayores posibilidades de desarrollar su gestación, por lo que es conveniente destinar a este fin novillas con buen desarrollo corporal (340-350 kg) con ciclos estrales regulares sometidas a un plano incrementado de nutrición.
- La selección definitiva de la receptora se lleva a cabo el mismo día de la implantación, dependiendo de determinados datos (momento de entrada en celo) y del resultado de la exploración ginecológica en ese momento (presencia de cuerpo lúteo).

## **CAPITULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Ubicación del lugar de la investigación**

##### **3.1.1. Ubicación política**

Este proyecto de investigación se realizó en la hacienda Zoila Luz ubicada en el km 24 de la vía Santo domingo- Quevedo.

Provincia: Santo Domingo de los Tsáchilas.

Cantón: Santo Domingo.

Parroquia: Luz de América.

##### **3.1.2. Ubicación geográfica**

La Hda. Zoila Luz se encuentra en la siguiente ubicación geográfica:

Altitud: 270 msnm

Coordenadas UTM: 9954241 Este, 688477 Norte.

##### **3.1.3. Ubicación ecológica**

Zona de vida: Bosque Húmedo Tropical (Bht) (Holdridge, 1987).

Formación Ecológica: Bosque Siempreverde Piemontano (Sierra, 1999)

Clima: Trópico, sub trópico, cálido.

Temperatura media anual: 23,6 °C.

Precipitación media anual:	2 980 mm/año.
Heliofanía media anual:	660 horas/luz/año.
Pluviosidad:	800 – 1 800 mm anuales.
Altitud:	550 msnm

## **3.2. Materiales**

### **3.2.1. Unidades experimentales**

Vacas receptoras no gestantes que se encuentren ciclando y sin problemas reproductivos.

### **3.2.2. Materiales para sincronización de celo**

Hormonas: implantes vaginales de progesterona (P4), prostaglandina (PGF2 $\alpha$ ), gonadotropina corionica equina (eCG), benzoato de estradiol.

- Jeringuillas desechables sin embolo (5 ml).
- Fósforo inyectable.
- Guantes quirúrgicos y ginecológicos
- Implantes intravaginales con progesterona (P4).
- Desparasitante en suspensión
- Vitamina ADE
- Relajante muscular
- 14 Vacas, sobre los cuatro años de edad de uno a dos partos cada una

### **3.2.3. Materiales para transferencia de embriones**

- Un dilatador de cérvix.
- Catéter I.M.V. para transferencia de embriones.

- Protectores chemise de 18 pulgadas.
- Guantes quirúrgicos y Ginecológicos.
- Embriones crio-preservados
- Termometro digital
- Alcohol 95%
- Papel craft
- Progesterona inyectable

### **3.2.4. Equipos**

- Ecografo
- Sonda transrectal

### **3.3. Métodos**

Se realizó manejo sanitario, nutricional luego se dividió a las receptoras en dos grupos, uno para cada protocolo d sincronización de celo. A los 60 días posteriores se realizó un chequeo ginecológico para determinar la ciclicidad de las receptoras. Con las observaciones obtenidas durante el diagnóstico se procedió a realizar la sincronización del celo. El protocolo-1 se aplicó un dispositivo intravaginal a base de progesterona a cada unidad experimental U.E. (día 0), luego se aplicó benzoato de estradiol (día 5), posteriormente se aplicó prostaglandina, retiro de implante intravaginal y aplicación de gonadotropina coriónica equina eCG (día 8), aplicación de benzoato de estradiol (día 9), se observó celo el día 10 y se transfirió el embrión el (día 17).

El protocolo-2 se aplicó una dosis de prostaglandina  $PGF_{2\alpha}$  y se esperó el celo, finalmente se transfirió el embrión siete días post-celo.

### **3.4. Diseño experimental**

#### **3.4.1. Factores a probar**

Los factores que se midieron fueron la presencia de celo, diámetro de cuerpo lúteo y preñez en respuesta a la aplicación de los protocolos de sincronización de celo.

#### **3.4.2. Tratamientos**

En el desarrollo de esta investigación se usó los siguientes tratamientos

**T1:** Protocolo-1 (P4)

**T2:** Protocolo-2 (PGF<sub>2α</sub>).

#### **3.4.3. Análisis estadístico**

El análisis estadístico se usó la prueba de chi-cuadrado, al 5% de significancia y estadística descriptiva según corresponda

#### **3.4.4. Variables a medir**

Para cumplir con los objetivos específicos de este trabajo, se evaluarán las siguientes variables:

##### *3.4.4.1. Presencia de celo (%)*

Se observó a través de percepción visual tal como secreción de moco transparente, vulva edematizada y roja, cola levantada, muge frecuentemente, monta y se deja montar por las otras vacas.

#### 3.4.4.2. Diámetro de cuerpo lúteo (mm)

El diagnóstico de cuerpos lúteos se evaluó con el uso del ecógrafo, se los clasifico en tres categorías de acuerdo al diámetro medido por ecógrafo.

Categoría 1: > a 22mm de diámetro

Categoría 2: = a 20mm de diámetro

Categoría 3: <15mm de diámetro

Nota: La categoria 1 y 2 son cuerpos lúteos aptos para realizar la transferencia embrionaria a la receptora.

#### 3.4.4.3. Porcentaje de preñez (%)

El diagnóstico de la preñez se realizó a los 60 días post trasplante embrionario la cual se determinará por medio de ecografía vía transrectal.

### **3.5. Manejo del experimento**

#### **3.5.1. Preparación de receptoras**

Las vacas receptoras se encontraban a término de lactancia con una condición corporal de 3 en la escala (1-5); con el apoyo del ecógrafo se hizo una valoración de las estructuras ováricas, específicamente el diámetro del cuerpo lúteo para así determinar la ciclicidad de la vaca.

Durante todo el experimento se suministró agua ad libitum, y rotación diaria de potreros.

Se hizo un manejo previo a la sincronización de celo que incluyo aspectos sanitarios, sales minerales, vitaminas, desparasitantes. Transcurrido los sesenta días de preparación de las receptoras, se realizó una valoración ginecológica para establecer la sincronización de celo de acuerdo con los siguientes protocolos.

Cuadro 3. Protocolo de sincronización de celo con progesterona (Protocolo-1)

<b>Día</b>	<b>Actividad</b>	<b>Dosis</b>	<b>Vía de administración</b>
<b>0</b>	Implante con progesterona	1,38mg progesterona	Intravaginal
<b>5</b>	Aplicación de Benzoato de Estradiol	2mg (0,4ml)	I.M.
<b>8</b>	Aplicación de PGF <sub>2</sub> $\alpha$	2ml	I.M.
	Aplicación de estrógeno sintético	2ml (300 mg)	I.M.
	Retiro del implante intravaginal		
<b>9</b>	Aplicación de benzoato de estradiol	0,2 ml	I.M.
<b>10</b>	<b>CELO</b>		
<b>17</b>	<b>TRANSFERENCIA DEL EMBRIÓN</b>		

Cuadro 4. Protocolo de sincronización de celo con prostaglandina (Protocolo-2)

<b>N° Día</b>	<b>Actividad</b>	<b>Dosis</b>	<b>Vía de administración</b>
<b>0</b>	Aplicación de PGF <sub>2</sub> $\alpha$	2 ml	Intramuscular (I.M.)
<b>3</b>	Detección de celo		
<b>10</b>	<b>TRANSFERENCIA DEL EMBRION</b>		

### 3.5.3. Transferencia embrionaria

#### 3.5.3.1. *Valoración del cuerpo lúteo (CL)*

Antes de realizar la transferencia se realizó una valoración del diámetro del cuerpo lúteo (cm) de la vaca receptora, esto nos dio la pauta, para realizar o no la transferencia del embrión en base a las categorías de clasificación.

#### 3.5.3.2. Limpieza y desinfección de la receptora

Antes de transferir el embrión se procedió a lavar la vulva y se aplicó lidocaína 2% vía epidural a fin de bloquear los nervios que rodean el tren posterior, este procedimiento evita el estrés y la edematización del aparato reproductor, luego se aplicó un relajante muscular por vía intramuscular. También se inyectó progesterona vía intramuscular post-implante.

#### 3.5.3.3. Descongelación del embrión

Para descongelar el embrión se prepara un espacio estéril a fin de evitar contaminantes durante la descongelación. El embrión se retiró del tanque con nitrógeno líquido, luego se roto durante siete segundos y se colocó en un recipiente con agua a 33°C durante veinte segundos, luego se procedió a retirar el tapón y se cargó en la pistola de transferencia de embriones.

#### 3.5.3.4. Transferencia del embrión

Con la pistola de transferencia embrionaria se atravesó el cérvix, hasta llegar al tercer tercio del cuerno uterino que posee el cuerpo lúteo C.L donde ubicamos el cuerpo lúteo en donde se deposita el embrión.

## CAPITULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Porcentaje de celo (%)

En cuanto al porcentaje de estro (celo) se obtuvieron los siguientes resultados.

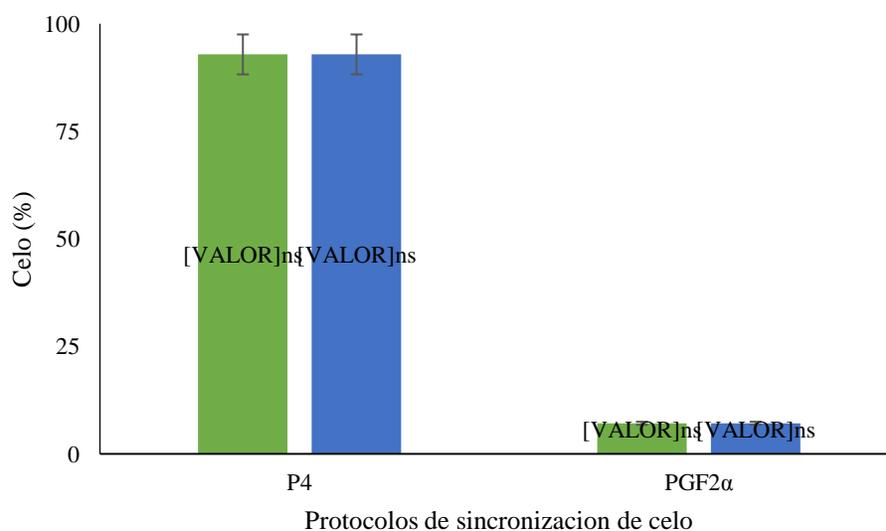


Figura 2. Promedio de estro en vacas receptoras sometido a dos protocolos de sincronización de celo.

En la figura 2 se determina que entre el protocolo-1 y protocolo-2 no hubo diferencia estadística; el  $X^2$  calculado fue de 0,42 y p-valor fue de 0,51. La presencia de celo de las receptoras fue de 92,86% y celo silencioso fue de 7,14% en cada tratamiento respectivamente.

La alta presencia de celo en receptoras estuvo influenciado por el control de mecanismos fisiológicos y nutricionales; al no haber diferencia estadística, los dos protocolos son viables para sincronizar el celo en hembras productoras de leche y carne.

Según (Niswender *et al.*,2000) el mecanismo de acción de la prostaglandina produce una caída de la progesterona que mantiene el cuerpo lúteo desencadenando los signos característico del estro (nerviosismo, mugido, monta y se deja montar) mismo que terminará con la fase luteínica

de los animales tratados. La progesterona actúa como antagonista de la hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH), logrando mantener el cuerpo lúteo hasta que se retira el implante (día-8 del protocolo-1), produciéndose un incremento gradual de gonadotropinas y estrógenos durante el celo (Hafez & Hafez, 2002).

Los celos silenciosos se presentan de forma espontánea, haciendo muy difícil su detección en campo siendo este un problema común en las explotaciones ganaderas. En este caso se toma como referencia el efecto de la prostaglandina ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) en el organismo del animal (48-96 h) post-aplicación y se evalúa la formación de cuerpos lúteos en el día 7 y de esta manera optar por llevar a cabo la transferencia embrionaria. Según (Hafez & Hafez, 2002) esto ocurre por presencia mínima de estrógenos que desencadenaría los síntomas del celo propiamente dicho.

#### 4.2. Diámetro de cuerpo lúteo (mm)

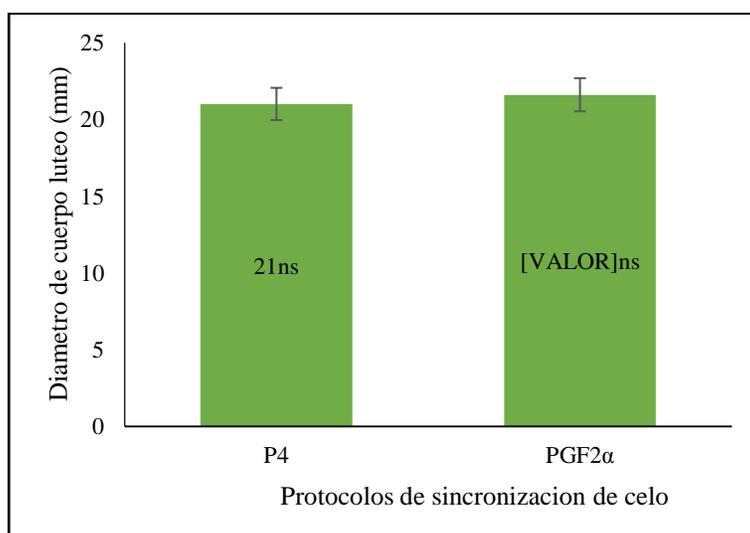


Figura 3. Diámetro de cuerpo lúteo (cm) en vacas receptoras sometidas con dos protocolos Hormonales de sincronización de celo.

En la figura 3, muestra que no existe diferencia estadística significativa entre tratamientos (protocolos de sincronización de celo) respecto a la variable diámetro de cuerpo lúteo. En el

protocolo-1 el diámetro del cuerpo lúteo promedio fue de 2,16cm mientras que en el protocolo-2 el diámetro promedio fue de 2,10cm.

El diámetro del cuerpo lúteo (dia-7) post celo, juega un papel importante en la transferencia embrionaria. Las receptoras que presentaron cuerpos lúteos (CL) >20mm se les transfirió embriones. En la implantación de embrionaria intervienen otros factores como: estado del embrión, condición corporal, época del año, grupos sanguíneos, estrés del animal, manipulación y manejo durante la transferencia embrionaria (TE), sanidad animal, entre otros.

### Cuadro 5. Categorización del diámetro de cuerpos lúteos (mm)

Protocolo	Categoría 1: > a 22mm	Categoría 2: = a 20mm	Categoría 3: <15mm
Progesterona (P4)	42,85%	28,57%	28,58%
Prostaglandina (PGF <sub>2α</sub> )	57,14%	28,57%	14,29%

**Nota:** Categoría 1: > a 22mm y Categoría 2: = a 20mm (Apto para transferencia embrionaria); Categoría 3: <15mm (No apto para transferencia embrionaria).

El cuadro 5, muestra que la prostaglandina (PGF<sub>2α</sub>) se obtuvo 57,14% (4/7) de cuerpo lúteo en categoría 1 (>22mm) y 28,57% (2/7) de cuerpo lúteo categoría 2 (=20mm) en receptoras, mismas que resultaron aptas para transferir el embrión. En el protocolo a base de progesterona (P4), se obtuvo 42,85% (3/7) de cuerpos luteos en categoría 1 (>22mm) y 28,57% (2/7) de dicha estructura ovárica en categoría 2 (=20mm) mismas que estuvieron aptas para transferencia embrionaria.

Durante el desarrollo de este trabajo se observó ineficiencia reproductiva en esta biotecnología, cuyo origen fueron hembras receptoras, relacionado precisamente con algunos aspectos a las estructuras ováricas, lo que pudo incidir directamente en las concentraciones de progesterona plasmática (Bo, Adams, Pierson; , & Mapletoft. , 1995; Rodríguez, 2017). Por tal motivo se midió y categorizó el diámetro del cuerpo lúteo, ya que un pobre desarrollo luteal generó concentraciones plasmáticas de progesterona insuficientes, para ofrecer un medio ambiente uterino apropiado al momento de transferir el embrión; ello, desencadenó pérdidas

embrionarias, ya que se ven afectados los mecanismos de establecimiento y mantenimiento de la gestación (Rodríguez, 2017).

### 4.3. Porcentaje de preñez en receptoras (%)

Cuadro 6. Porcentaje de preñez en vacas receptoras post E.T.

<b>Tratamiento</b>	<b>Preñez (%)</b>	<b>Reabsorción (%)</b>
Progesterona	28,57	71,43
Prostaglandina	42,86	57,14
X <sup>2</sup>	0,31	
p-valor	0,57	

En el cuadro se observó que hubo diferencia estadística para la variable “porcentaje de preñez”, en donde se obtuvo  $x^2=0,31$  y p-valor de 0,57. El porcentaje de preñez en el protocolo-1 fue de 28,57% y el protocolo-2 fue de 42,86%. Según (Nogueira et ál., 2004) el uso de progesterona exógena produce una reducción en la preñez, evidenciándose similitud en la presente investigación.

Sartori et al (2001), menciona que la tasa de preñez está directamente relacionada con el diámetro del cuerpo lúteo, ya que éste regula la concentración de progesterona circundante. La secreción de progesterona está vinculada a factores genéticos, nutricionales, edad, ambientales que condicionan y limitan la tasa de concepción durante la transferencia embrionaria (TE).

Otro factor que condiciona la tasa de concepción, es la manipulación del aparato reproductor en el momento de la transferencia embrionaria, mismo que está asociado a lesiones de la mucosa y la producción de prostaglandina (PGF2 $\alpha$ ) producto de la invasión del tracto reproductivo de la hembra (Colazo et al., 2007). (Clement-Sengewald, Palma, & Brem, 2001) obtuvo una tasa de concepción del 40.9% en vacas Boss taurus. Este porcentaje es similar al obtenido en este estudio 42,86% mediante la sincronización de celo con prostaglandina (PGF2 $\alpha$ ). Mientras (Cabodevila, 2001), obtuvieron una tasa de preñez de 62,7% usando protocolos de sincronización con

P4+Benzoato de estradiol, en este trabajo se obtuvo 28,57% de preñez usando progesterona (P4) para sincronizar el celo.

En cuanto a anomalías fisiológicas asociados a las estructuras ováricas representan un punto de control importante, para obtener adecuados resultados durante el uso técnicas de transferencias embrionarias (T.E), de igual forma la relación positiva que posee el tamaño del CL sobre la tasa de preñez es primordial para mejorar los resultados de la TE ( Rodríguez , 2017). Por esto es importante generar información de las estructuras ováricas presentes durante la sincronización, así, como de las etapas previa y posterior a TE. De este modo, se evita transferir embriones a receptoras que presentaron un pobre desarrollo de cuerpo lúteo (C.L) por ende bajas concentraciones plasmáticas de progesterona misma que no puede ofrecer un medio ambiente uterino propicio para favorecer el óptimo desarrollo embrionario (Beg, Bergfelt, Kot , Wiltbank , & Ginther, 2001). Por tal motivo comprobar la presencia de estructuras que demuestran ciclicidad ovárica, son básicos para programas de investigación y desarrollo de esta biotecnología en nuestro medio (Austin, y otros, 2001).

Según Cutini et al (2000), indicaron que no existen diferencias entre las tasas de preñez entre las razas Taurus (46,0%), Indicus (43,2%) y doble propósito (43,9%), esto indica que si el manejo es apropiado a las receptoras favorecerá a las tasas de preñez. En esta investigación se obtuvo el 28,57% de preñez con el protocolo-1 y 42,86% de concepción con el protocolo-2. Además se midió la preñez a los 60 días post-transferencia embrionaria, ya que en este trabajo no se tomó en cuenta las pérdidas embrionarias tardías, este aspecto puede afectar un programa de producción comercial.

## V. CONCLUSIONES

- El celo no fue estadísticamente significativo en ningún tratamiento, siendo 92,86% respectivamente. Esto no condiciona el desarrollo del cuerpo lúteo ni la preñez.
- El diámetro de cuerpo lúteo fue de 2,16 en el protocolo con progesterona (P4) y 2,10cm con prostaglandina (PGF2 $\alpha$ ), sin embargo no se observó diferencia estadística significativa. Esto influye en la preñez porque condiciona la liberación de progesterona circundante para un eficaz implante
- La tasa de preñez se vió condicionada por factores nutricionales (Condición corporal), observación del celo, edad, manipulación del aparato reproductor durante la transferencia embrionaria, así como el número de partos de las receptoras.
- Lamentablemente no se contó con vaconas vientre para las transferencias embrionarias, en ellas hay altos porcentajes de gestación por tener un útero “virgen” con altos niveles de progesterona circundante.
- Las anomalías fisiológicas relacionadas a la ciclicidad y desarrollo de estructuras ováricas de las hembras receptoras, constituyes un punto de control porque se prescinde de transferir embriones a vacas con bajas concentraciones de progesterona plasmática, mismas que no proveen un ambiente idóneo para el desarrollo del embrión.

## VI. RECOMENDACIONES

- Dar manejo sanitario, nutricional antes de realizar la sincronización del celo mismo que influyen en los resultados como: diámetro de cuerpo lúteo, presencia de celo, y tasa de preñez.
- Usar prostaglandinas sintéticas para sincronizar celo en programas de transferencia embrionarias, ya que se evidenció una mayor tasa de preñez.
- Realizar estudios con otros protocolos de sincronización de celo a fin de obtener mejores resultados en la transferencia de embriones (TE).
- Realizar estudios de sincronización de celo y transferencia embrionaria en otras razas de ganado de interés comercial.
- Determinar la ciclicidad de las hembras receptoras para evitar pérdidas de embriones crio-preservados.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Rodríguez Rodríguez, S. J. (2017). *Rodríguez Rodríguez, S. J. Influencia del tamaño del cuerpo lúteo, sobre la tasa de preñez, en vacas de la raza brahman, sincronizadas a tiempo fijo, para transferencias de embriones producidos In vitro*. Toluca: Universidad Autónoma del Estado de México.
- Austin, E. J., Mihm, M., Austin, E. J.; M., Mihm; A. C., Evans; P. G., Knig, Evans, A. C., Knight, P. G., Ireland, J. L., . . . Roche, J. F. (2001). Alterations in intrafollicular regulatory factors and apoptosis during selection of follicles in the first follicular wave of the bovine estrous cycle. . *Biology of Reproduction*. , 64: 839-835. .
- Avila, A. (2003). *utep.inifap.gob.mx*. Obtenido de <http://utep.inifap.gob.mx/tecnologias/3.%20Bovinos%20Doble%20Prop%C3%B3sito/3.%20Gen%C3%A9tica%20y%20Reproducci%C3%B3n/TRANSFERENCIA%20DE%20EMBRIONES%20EN%20GANADO%20BOVINO.pdf>
- Backer, M. (1999). *Contabilidad de costos*. Colombia: Printer Colombia S.A.
- Beg, M. A., Bergfelt, D. R., Kot , K., Wiltbank , M. C., & Ginther, O. J. (2001). Follicular-fluid factors and granulosa-cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. *Biology of Reproduction*. , 64: 432-441. .
- Bo, G. A., Adams, G. P., Pierson; , R. A., & Mapletoft. , R. J. (1995). Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. . *Theriogenology*, 43: 31-40.
- Brito, R. (1999). “Fisiología de la Reproducción Animal con elementos de Biotecnología”. En R. Brito, “*Fisiología de la Reproducción Animal con elementos de Biotecnología*” (págs. 254-261). La Habana: Félix Varela.
- Cabodevila, J. (2001). *Programa de transferencia de embriones*. Balcarce: INTA.
- Clement-Sengewald, A., Palma, G., & Brem, G. (2001). *Biotecnología de la reproducción*. Balcarce: Reprobiootec.
- Colazo, M., Mapletoft, R., Martinez, M., & Kastelic, J. (2007). El uso de tratamientos hormonales para sincronizar el celo y la ovulación en vaquillonas. *Ciencia Veterinaria*, 1515-1883.
- Cordova, A. B. (2011). *Protocolos de sincronización y supervulación para transferencia de embriones bovinos (Bachelor's thesis)*. Cuenca: Universidad de Cuenca.
- De Rensis, F., & López, F. (2014). *ReprodAction*. Obtenido de ReprodAction: <http://www.reprodaction.com/es/Trials-y-Articulos/2014.03.01-Revision-de-la-utilidad-de-la-Gonadotropina-corionica-equina-en-la-reproduccion-bovina>

- Fortin, M. (1989). Sincronización de celos en bovinos con prostaglandinas. Aspectos prácticos. *CABIA*, 15, 29-39.
- GORFREY, B. (1991). *Reproducción Animal*. Mexico, DF: Limusa.
- Hafez, E. S., & Hafez, B. (2002). Ciclos reproductivos. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. En E. S. Hafez, & B. Hafez, *Reproducción e Inseminación Artificial en animales* (págs. 56-69). Mexico: McGraw-Hill. .
- Henao , D. M., Carrillo, M. L., & Olivera , M. A. (2004). Comportamiento durante el calor y dinámica folicular interestral en vacas BON (Blanco Orejinegro). . *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.*, 17: 39-43.
- Knobill , E., & Neill , J. D. (1994). The physiology of reproduction. . *Raven Press*, Vol. 2 pp 107-212.
- Levi del Aguila, L. (2007). *Evaluación de dos protocolos hormonales de sincronización de estro e inseminación artificial a tiempo fijo en vacas cebuinas bajo condiciones de crianza extensiva en la Amazonía*. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Niswender, G. D., Juengel, J. L., Silva, P. J., Rollyson, M. K., & McIntush. , W. E. (2000). Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. . *Physiological Reviews.* , 80 (1) p 1-19. .
- Ponce, N. (2015). *Transferencia de embriones en ganado bovino*. Alfará de Patriarca: Universidad Cardenal Herrera.
- Quirk, S. M., Cowan , R. G., Harman , R. M., Hu, C. L., & Porter, D. A. (2004). Ovarian follicular growth and atresia: the relationship between cellular proliferation and survival. . *Journal of Animal Science.*, 82: 40-52. .
- Rowson, L., Lawson, R., Moor, R., & Baker, A. (1972). Egg transfer in the cow: Synchronization requirements. *Journal of reproduction and fertility*, 28(3), 427-431.
- Ruiz, A. F. (2016). Las fases del ciclo estral en la hembra bovina y su regulación hormonal. *Genbiogan*.
- Sanchez, T., Werhman, M. E., Kojima, F. N., Cupp, A. S., Bergfeld, E. G., Peters, K. E., . . . Kinder, J. E. (1995). Dosage of the synthetic progestin, norgestoment influences luteinizing hormone pulse equency and endogenous secretion of 17B-estradiol in heifers. *Biology of Reproduction.* , 52: 462-469.
- Sartori, R., Fricke, P. M., Ferreira , J. C., Ginther , O. J., & Wiltbank, M. C. (2001). Follicular deviation and acquisition of ovulatori capacity in bovine follicles. *Biology of Reproduction.* , 65: 1403-1409.
- Senger, P. L. (2005). Pathways to pregnancy and parturition. *Second Revised*, 145-185.

Velazco, H., Ruiz, H., Ruiz, A., Villalobos, A., Dominguez, O., Orantes, J., & Esponda, W. (2008). *Manual de Transferencia de Embriones en Ganado Bovino*. Chiapas: Universidad de Chiapas.

Zulema del Rocio, M. (2010). *"Evaluación de los parámetros productivos y reproductivos en la transferencia de embriones en vacas de la hacienda Miraflores bajo N°2"*. Riobamba: Escuela Politecnica de Chimborazo.