



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

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

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN  
DEL TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA**

**“DESARROLLO DE LAS ESTRUCTURAS OVÁRICAS EN  
RESPUESTA A LA APLICACIÓN DE DOS  
GONADOTROPINAS SUPEROVULATORIAS EN BOVINOS  
(PMSG Y FSH-p)”**

**AUTORES**

**AÑAZCO CHÁVEZ JOFFRE PAÚL  
VINUEZA CASTILLO NELSON PAÚL**

**DIRECTOR: VALDIVIESO PLAZA FÉLIX**

**SANTO DOMINGO - ECUADOR**

**2017**

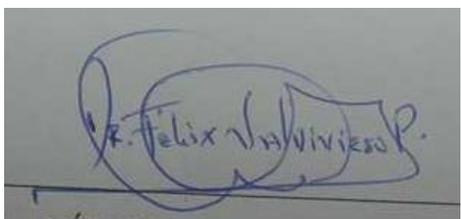


**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**CERTIFICACIÓN**

Certifico que el trabajo de titulación ***“DESARROLLO DE LAS ESTRUCTURAS OVÁRICAS EN RESPUESTA A LA APLICACIÓN DE DOS GONADOTROPINAS SUPEROVULATORIAS EN BOVINOS (PMSG Y FSH-p)”*** realizado por los señores egresados ***JOFFRE PAÚL AÑAZCO CHÁVEZ*** y ***NELSON PAÚL VINUEZA CASTILLO***, ha sido revisado en su totalidad y analizado por el software anti-plagio, el mismo que cumple con los requisitos teóricos, técnicos, científicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por lo tanto me permito acreditar y autorizar a los señores ***JOFFRE PAÚL AÑAZCO CHÁVEZ*** y ***NELSON PAÚL VINUEZA CASTILLO*** para que sustenten públicamente el mencionado tema.

Santo Domingo, Septiembre del 2017



**Dr. FÉLIX VALDIVIESO PLAZA  
DIRECTOR**



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

**AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD**

Nosotros, **JOFFRE PAÚL AÑAZCO CHÁVEZ**, con cédula de identidad N° 0804015162 y **NELSON PAÚL VINUEZA CASTILLO**, con cédula de identidad N° 1721386637 declaramos que este trabajo de titulación ***“DESARROLLO DE LAS ESTRUCTURAS OVÁRICAS EN RESPUESTA A LA APLICACIÓN DE DOS GONADOTROPINAS SUPEROVULATORIAS EN BOVINOS (PMSG Y FSH-p)”*** ha sido desarrollado considerando los métodos de investigación existentes, ha si como también se ha respetado los derechos intelectuales de terceros considerándose en las citas bibliográficas.

Consecuentemente declaramos que este trabajo es de nuestra autoría, en virtud de ello nos declaramos responsables del contenido, veracidad y alcance de la investigación mencionada.

Santo Domingo, Septiembre del 2017

**JOFFRE PAÚL AÑAZCO CHÁVEZ**

C.C. 080401516-2

**NELSON PAÚL VINUEZA CASTILLO**

C.C. 1721386637



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

**AUTORIZACIÓN**

Nosotros, **JOFFRE PAÚL AÑAZCO CHÁVEZ** y **NELSON PAÚL VINUEZA CASTILLO**, autorizamos a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar en la biblioteca Virtual de la institución el presente trabajo de titulación ***“DESARROLLO DE LAS ESTRUCTURAS OVÁRICAS EN RESPUESTA A LA APLICACIÓN DE DOS GONADOTROPINAS SUPEROVULATORIAS EN BOVINOS (PMSG Y FSH-p)”*** cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra autoría y responsabilidad.

Santo Domingo, Septiembre del 2017

**JOFFRE PAÚL AÑAZCO CHÁVEZ**  
C.C. 080401516-2

**NELSON PAÚL VINUEZA CASTILLO**  
C.C. 1721386637

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por ser la principal fuerza y apoyo durante todos los días de mi vida.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE, Carrera de Ingeniería Agropecuaria Extensión Santo Domingo, por darnos la oportunidad de ser parte de tan prestigiosa Institución Educativa de nivel superior.

A nuestro Director del proyecto de investigación el Dr. Félix Valdivieso Plaza, por su inquebrantable apoyo en la elaboración de éste trabajo, logrando de ésta manera una gran satisfacción por la culminación del mismo.

Al Doctor Gelacio Gómez y el Ingeniero Andrés Vargas por su gran ayuda durante todo el proceso del proyecto.

A Bety Heredia y a Javier Correa por su colaboración, aporte y compañerismo en la realización del proyecto

## DEDICATORIA

A mi querido Dios por brindarme la sabiduría, paciencia y temple de seguir adelante en este camino hacia la ingeniería.

A mis padres que son el pilar fundamental en mi vida, quienes con infinito amor me han llevado de la mano sin importar lo dificultosa que fuera

A mis queridas hermanas quienes han ideado en mí magnos valores y gracias a ellas he podido culminar este arduo camino académico.

A Andrea que fue un gran apoyo durante mi carrera profesional con comprensión y amor.

Nelson Paúl Vinueza Castillo

A mi Dios por darme fuerza, paciencia, salud, inteligencia y ganas de seguir y conseguir mis sueños.

A mis padres Jofre y Flor quienes me han apoyado durante toda mi vida siendo pilar fundamentales en mi formación.

A mis dos hermanas Diana y Nathaly que siempre me han animado a seguir adelante.

A mis abuelitos que siempre estuvieron pendientes de mí en mi formación.

A todos mis compañeros y amigos que siempre estuvieron allí dando ánimo y apoyo siempre que fue necesario.

A Dana por su gran apoyo en toda la carrera, por su comprensión y su tiempo dedicado hacia mí.

Joffre Paúl Añazco Chávez

## ÍNDICE DE CONTENIDO

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD .....	iii
AUTORIZACIÓN .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
DEDICATORIA .....	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO .....	vii
ÍNDICE DE CUADROS .....	x
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xi
RESUMEN .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
CAPITULO I .....	1
PROBLEMA .....	1
1.1. Planteamiento del problema.....	1
1.2. Antecedentes .....	1
1.3. Justificación .....	1
1.4. Objetivos.....	3
1.4.1. Objetivo general .....	3
1.4.2. Objetivos específicos .....	3
1.5. Hipótesis .....	3
CAPITULO II.....	4
MARCO TEORICO .....	4
2.1 Introducción .....	4
2.2 Ciclo Estral .....	5
2.2.1 Fases del ciclo estral.....	5
2.3 Fase folicular o de regresión lútea (proestro) .....	5
2.4 Fase periovulatoria (estro y metaestro).....	6
2.5 Fase luteal (diestro).....	7
2.6 Superovulación .....	7
2.7 Factores que afectan la respuesta superovulatoria .....	8
2.7.1 Factores farmacológicos.....	8
2.7.2 Factores externos .....	8
2.7.3 Factores fisiológicos.....	8

2.8 Hormonas empleadas para superovulación: .....	8
2.8.1. Gonadotropinas de extractos de pituitaria de animales domésticos (FSH).....	8
2.8.2. Gonadotropina coriónica equina (eCG) .....	9
2.9 Principio de la ultrasonografía.....	11
2.10 Anatomía del aparato genital de la hembra bovina.....	11
2.11 Ovarios.....	11
2.12 Examen ecográfico del aparato genital de la hembra bovina .....	12
2.12.1 Ovarios .....	12
2.12.2 Folículos .....	12
2.12.3 Cuerpo lúteo .....	13
2.12.4 Quistes Ováricos .....	14
CAPÍTULO III .....	16
MATERIALES Y METODOLOGÍA .....	16
3.1 Ubicación del área de investigación .....	16
3.1.1 Ubicación política .....	16
3.1.2 Ubicación geográfica.....	16
3.1.3 Ubicación ecológica .....	16
3.1.4 Características climáticas .....	17
3.2 Materiales.....	17
3.2.1 Material experimental .....	17
3.2.2 Material complementario .....	17
3.3 Métodos .....	18
3.4 Diseño experimental .....	18
3.4.1 Factores .....	18
3.4.2 Tratamientos.....	19
3.4.3 Análisis estadístico.....	19
3.4.4 Variables a medir .....	19
3.5 Métodos y procedimientos del manejo del experimento .....	20
3.5.1 Preparación de Donantes .....	20
3.5.2 Transcurrido los 45 días del período de manejo de las donantes .....	20
CAPÍTULO IV .....	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....	23
4.1 Análisis previo .....	23
4.2 Resultados de los tratamientos superovulatorios .....	23
4.2.1 Ovarios .....	24

4.2.2 Folículos .....	25
4.2.3 Cuerpo lúteo .....	29
4.2.4 Otras estructuras presentes .....	32
CAPÍTULO V .....	33
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	33
5.1 Conclusiones .....	33
1.6. Recomendaciones .....	34
5.3 Bibliografía: .....	35

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Protocolo superovulatorio con FSH-p .....	21
<b>Cuadro 2</b> Protocolo superovulatorio con eCG .....	22
<b>Cuadro 3.</b> Promedios del diámetro de los ovarios de las vacas donantes en cm, sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG). .....	24
<b>Cuadro 4.</b> Promedios del diámetro de los folículos de los ovarios de las vacas donantes en cm sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG) .....	25
<b>Cuadro 5.</b> Promedio del número de folículos de los ovarios de las vacas donantes sometidos a dos protocolos superovulatorios con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG) .....	27
<b>Cuadro 6.</b> Promedios del diámetro de los cuerpos lúteos de los ovarios de las vacas donantes en cm, sometidos a dos protocolos superovulatorios con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG).....	29
<b>Cuadro 7.</b> Promedios del número de los cuerpos lúteos de los ovarios de las vacas donantes, sometidas a dos protocolos superovulatorios con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG) .....	30

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Sincronización y superovulación mediante FHS-p y prostaglandina .....	9
<b>Figura 2.</b> Sincronización y superovulación mediante PMSG anti- eCG y prostaglandina.....	10
<b>Figura 3.</b> Ovario con dos folículos de 0.8 mm de diámetro .....	13
<b>Figura 4.</b> Cuerpo lúteo con cavidad.....	14
<b>Figura 5.</b> Quiste Folicular.....	15
<b>Figura 6.</b> Promedio del diámetro de los ovarios izquierdos de las vacas donantes en cm sometidas a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG) .....	24
<b>Figura 7.</b> Promedio del diámetro de los ovarios derechos de las vacas donantes en cm sometidas a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG) .....	25
<b>Figura 8.</b> Promedios del diámetro de los folículos de los ovarios izquierdos de las vacas donantes en cm sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG).....	26
<b>Figura 9.</b> Promedio del diámetro de los folículos de los ovarios derechos de las vacas en cm sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG) .....	26
<b>Figura 10.</b> Promedio del número de folículos de los ovarios izquierdos de las vacas donantes sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG) .....	28
<b>Figura 11.</b> Promedio del número de folículos los ovarios derechos de las vacas donantes sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas (FSH-p y eCG) .....	28
<b>Figura 12.</b> Promedios del diámetro de los cuerpos lúteos al día 15 de los ovarios izquierdos de las vacas donantes en cm, sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG).....	30
<b>Figura 13.</b> Promedios del diámetro de los cuerpos lúteos al día 15 de los ovarios derechos de las vacas donantes en cm, sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas (FSH-p y eCG) .....	30

<b>Figura 14.</b> Promedios del número de los cuerpos lúteos al día 15 de los ovarios izquierdos de las vacas donantes, sometidas a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG) .....	31
<b>Figura 15.</b> Promedios del número de los cuerpos lúteos al día 15 de los ovarios derechos de las vacas donantes, sometidas a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG). .....	31
<b>Figura 16.</b> Porcentaje de las estructuras ováricas de las vacas donantes presentes al día 15 de los tratamientos superovulatorios. ....	32

## RESUMEN

La caracterización de las estructuras ováricas en respuesta a dos protocolos de superovulación utilizando las hormonas FSH-p y eCG, en ganado bovino se realizó como investigación en la Hacienda Zoila Luz, propiedad de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, los dos protocolos utilizados se diferenciaron por el uso de diferentes hormonas superovulatorias eCG (200 UI) y FSH-p (200 mg), en ocho vacas de raza Gyr y Girolando; el análisis estadístico que se utilizó fue la “prueba de t pareada”, se hizo un manejo previo a los animales que incluían minerales, vitaminas, sobre alimentación de un kg de balanceado al 15 % de proteína diario y Controles reproductivos. Las variables que se midieron fueron: tamaño, número de folículos, cuerpos lúteos y otras estructuras que puedan aparecer como los quistes foliculares. Las evaluaciones de las estructuras se lo hizo con la ayuda de un ecógrafo y una sonda transrectal; en los folículos no se encontró diferencia significativa en el tamaño, mientras que en el número hubo mayor cantidad promedio de folículos en el protocolo 1, que en el protocolo 2, en el caso de los cuerpo lúteo existió el mismo resultado que con los folículos es decir hubo mayor cantidad con el protocolo 1, debido a que el uso de eCG en el protocolo 2 cuyo peso molecular es elevado lo que le da mayor duración en sangre provocando en muchos casos quistes foliculares, reduciendo el número posible de embriones colectados; por lo descrito, se recomienda el uso y aplicación del protocolo 1 para tratamientos superovulatorios.

### **PALABRAS CLAVE:**

- **FOLÍCULOS**
- **CUERPOS LUTEO**
- **ECOGRAFÍA**

## **ABSTRACT**

The characterization of ovarian structures in response to the superovulation protocols using the FSH-p and eCG hormones in cattle was carried out as research at the Zoila Luz Farm, owned by the Agricultural Engineering College of the University of the Armed Forces ESPE , The two protocols used were differentiated by the use of different superovulatory hormones eCG (200 IU) and FSH-p (200 mg) in eight Gyr and Girolando cows; The statistical analysis that was used was the paired test, a previous management of the animals that included minerals, vitamins, on the feeding of a kilometer of balanced to 15% of the daily diet and Reproductive Controls was done. The variables that were measured were: size, number of follicles, corpora lutea and other structures that appear as follicular cysts. Structural evaluations were done with the aid of an ultrasound and a transrectal probe; In the follicles there was no significant difference in size, whereas in the number there were more follicles in protocol 1, than in protocol 2, in the case of the corpus luteum there was the same result as with the follicles is Say there were Greater quantity with protocol 1, because the use of eCG in the protocol 2 whose molecular weight is high what the greater term in blood provoking in many cases folios, reducing the possible number of embryos collected; As described, the use and application of protocol 1 for superovulatory treatments is recommended.

### **KEYWORDS:**

- **FOLÍCULOS**
- **CORPUS LUTEUM**
- **ECOGRAPHY**

# CAPITULO I

## PROBLEMA

### 1.1.Planteamiento del problema

Durante mucho tiempo, ya sea por desconocimiento de las modernas técnicas biotecnológicas (superovulación y sincronización de celo) o por los costos, la capacidad reproductiva de la hembra estaba limitada a una cría año en el mejor de los casos, aun siendo un animal de alto mérito genético; sin embargo la estructura del ovario al ser sometido a tratamientos superovulatorios es quien determina la calidad y cantidad de embriones, por lo que se hace necesario su análisis y estudio profundizado (Cordoba, 2011).

### 1.2.Antecedentes

La producción y reproducción bovina está relacionado directamente con varios aspectos que incluyen a la alimentación, condiciones de manejo, sanidad de los animales, manejo reproductivo con bases fundamentadas y el mejoramiento genético en base a la inseminación artificial y la transferencia de embriones (Ortiz, 2008).

En el Ecuador la reproducción bovina en la mayoría de las ganaderías, es manejada empíricamente, en relación con los avances biotecnológicos que se han producido en diferentes partes del mundo; tales como la inseminación artificial, súper ovulación, transferencia de embriones, producción in vitro de embriones, ente otros (Ortiz, 2008).

Según el censo agropecuario MAG-INEC del 2000 las Unidades de producción agrícola que se dedican a la ganadería son 302 737, de las cuales el 60 % se dedica a la monta directa, del 34 % no se tiene datos conocidos, el 3 % realiza inseminación artificial y el 3 % restante realiza transferencia embrionaria (Haro, 2003).

### 1.3.Justificación

En el Ecuador hasta el 2013 según una encuesta realizada por la Dirección de Estadísticas Agropecuarias y Ambientales, existían 5 134 122 bovinos, con una tendencia a la baja de -0,02 % partiendo desde el año 2 011, este descenso se lo atribuye a muerte por mal manejo, sacrificios y enfermedades; además se registra un

promedio de baja productividad en el país siendo en carne una ganancia diaria de peso de 200 g y una producción de leche en 5 litros/días (INEC, 2014).

El MAG, observando este promedio de productividad, ha trabajado en la mejora genética del ganado bovino ecuatoriano; una de las metodologías usadas fue la importación desde Paraguay más de 10 000 bovinos (MAGAP, 2015)

El objetivo principal de la mejora genética de bovinos consiste en obtener avances en características económicamente importantes, ya sea en base a la producción de carne o leche. La mejora genética “tradicional” (monta directa) se logra generación tras generación siguiendo un patrón mayoritario de genes favorables para el desarrollo de una característica deseada (MAE, 2013).

La introducción de razas que no son propias de la zona van a acarrear problemas de adaptabilidad (MAE, 2013) por la diferencia ambiental que existe; llevando problemas sanitarios, de alimentación, entre otros.

En la actualidad existen metodologías más rápidas de mejoramiento genético, como la inseminación artificial, sincronizaciones de celos, superovulación, la transferencia embrionaria, etc. Esto permite usar las reproductoras con las mejores características productivas y de resistencia para realizar una mejora genética muy rápida comparada a la tradicional (MAE, 2013).

La superovulación resulta una técnica de mejora genética muy rápida, ya que permite obtener varios embriones de las donantes (madres) en un mismo año, con las mejores características productivas y de resistencia a las condiciones ambientales; además de que estos padres están adaptados a la zona, por lo que las investigaciones en esta línea van a permitir el desarrollo rápido del mejoramiento genético en la región y en el país (Cordoba, 2011).

La superovulación actúa en los ovarios, formando y desarrollando folículos secuencialmente, que darán varios ovocitos, que deben ser fertilizados y es de donde se obtienen los embriones al séptimo día, durante estos eventos ocurren cambios en el ovario que determinan la cantidad y la calidad de los embriones que son necesarios analizar (Cordoba, 2011).

## **1.4. Objetivos**

### **1.4.1. Objetivo general**

- Caracterizar la estructura ovárica en respuesta a dos gonadotropinas superovulatorias, en bovinos.

### **1.4.2. Objetivos específicos**

- Evaluar el número, tamaño y desarrollo de los folículos antes y durante el tratamiento superovulatorio.
- Determinar el número y tamaño de los cuerpos lúteos antes de la aplicación de los protocolos y pre colecta de los embriones.
- Difundir los resultados conseguidos en el proyecto de investigación con estudiantes afines a la carrera.

## **1.5. Hipótesis**

**H<sub>0</sub>** No existe diferencia significativa en las estructuras ováricas post aplicación de los protocolos hormonales en la superovulación.

**H<sub>a</sub>** Existe diferencia significativa en las estructuras ováricas post aplicación de los protocolos hormonales en la superovulación.

## **CAPITULO II**

### **MARCO TEORICO**

#### **2.1 Introducción**

La ultrasonografía transrectal se ha convertido en una útil herramienta en la reproducción animal desde su implementación en la década de 1980 (Quintela , Díaz, Herradón, Peña , & Becerra, 2006)

La ultrasonografía o ecografía en tiempo real es una valiosa técnica ampliamente utilizada durante los últimos años para estudiar estructuras anatómicas y funcionales del aparato reproductivo de los bovinos (Perea, 2005). Diversos autores han empleado esta técnica, ya que es un método no invasivo que no solo permite el diagnóstico temprano de la gestación (Motta, Ramos , Gonzáles, & Castro, 2011), sino que además permite realizar la evaluación del útero, cérvix, ovarios “folículos, cuerpos lúteos y quistes” y sus cambios morfológicos, diagnóstico embrionario y fetal, sexaje del feto, seguimiento de los diferentes eventos fisiológicos presentes en los bovinos; detección y estudio de posibles cambios patológicos (Pierson, Kastelic , & Ginther, 1998)

La ecografía es una técnica en la que se emplea ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes de los tejidos blandos y órganos internos, las cuales podemos visualizar a través de la pantalla del ecógrafo (Tamayo, 2003).

Permite descubrimientos importantes para la reproducción animal, posibilitando una mayor comprensión de los eventos que ocurren durante el ciclo estral. Este mayor conocimiento es aplicado en programas de sincronización de celos e inseminación artificial y en esquemas de mayor tecnología como la superovulación, transferencia de embriones y aspiración de folículos para fertilización in vitro (Bó & Caccia, 2001).

La eficiente respuesta al tratamiento superovulatorio es la condición fundamental para que un programa de transferencia de embriones tenga éxito y para el desarrollo científico de biotecnologías más avanzadas que dependan de la disposición de embriones y ovocitos, como material de investigación (micromanipulación y sexado de embriones, clonación y transgénesis) (Eligio, 2000).

## **2.2 Ciclo Estral**

El ciclo estral se compone de los eventos fisiológicos que se producen entre periodos iterativos de receptividad sexual y, la ovulación se inicia después de la pubertad en las hembras para continuar durante toda su vida (Senger, 2003). Normalmente el ciclo reproductivo o estral varía entre 17- 24 días, considerándose 21 días como el tiempo promedio del ciclo (Rippe, 2009).

### **2.2.1 Fases del ciclo estral**

El ciclo estral se puede dividir en tres fases:

- ✓ Fase folicular o de regresión lútea (proestro)
- ✓ fase periovulatoria (estro y metaestro)
- ✓ fase luteal (diestro).

El día 0 del ciclo estral es el día del celo, signo visible a simple vista; sin embargo desde el punto de vista fisiológico, la descripción se realizará a partir de la formación del cuerpo lúteo y finalizará en la destrucción del mismo en el siguiente ciclo (Senger, 2003).

### **2.3 Fase folicular o de regresión lútea (proestro)**

Este período, cuya duración es de 3 días, comienza con la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior y finaliza con la manifestación de celo. Al producirse la destrucción del cuerpo lúteo tenemos una caída en los niveles de progesterona y posteriormente una pérdida de tejido luteal, siendo la PGF<sub>2a</sub> de origen uterino el principal luteolítico en los animales domésticos y en la mayoría de los roedores. Como consecuencia de la caída de los niveles de progesterona, disminuye el feed back negativo que dicha hormona tenía a nivel hipotalámico y comienzan a aumentar la frecuencia pulsátil de las hormonas gonadotróficas (FSH y LH) y se estimula el crecimiento folicular con el desarrollo de un gran folículo y el aumento en los niveles de estradiol. Cuando los

estrógenos alcanzan cierto nivel, se estimula la receptividad al macho y comienza el período de celo o estro (Rippe, 2009)

#### **2.4 Fase periovulatoria (estro y metaestro)**

Esta fase comienza con la receptividad al macho (se deja montar por vacas y toros), e involucra todos los cambios que permiten la ovulación y comienzo de la formación del cuerpo lúteo. Durante el estro, cuya duración es de  $18\pm 6$  hs, la vaca manifiesta inquietud, ansiedad, brama con frecuencia y pierde el apetito; en el caso de las vacas lecheras baja su producción. Las vacas presentan descarga de mucus con mínima viscosidad (filante), cuyo olor atrae y excita al toro (presencia de feromonas), edema de vulva y en el útero se produce un aumento del tono miométrial, detectado fácilmente por palpación transrectal. Durante esta fase, los estrógenos en altas concentraciones alcanzan el umbral de estimulación del centro cíclico hipotalámico, estimulando a las neuronas hipotalámicas a producir el pico de GnRH y en consecuencia el pico de LH. Con respecto a la FSH, disminuye su secreción, consecuencia del feed back negativo estrogénico y de la inhibina, con excepción del momento en que se produce el pico preovulatorio de LH, en que puede aparecer un pico de FSH. Posteriormente, 4 a 12 horas después de la onda de LH, se incrementan la concentración basal y la amplitud de los pulsos de FSH, relacionándose esto con la primera onda de crecimiento folicular. Luego de 12 a 24 horas de comenzado el celo, el sistema nervioso de la vaca se torna refractario al estradiol y cesan todas las manifestaciones psíquicas del mismo (Shearer, 2003).

El período inmediato a la finalización del celo, es el metaestro (6 días). En este período ocurre la ovulación de la vaca, a diferencia de las otras especies que lo hacen durante el celo, y comienza la organización celular y desarrollo del cuerpo lúteo. La ovulación ocurre 28 a 32 horas de iniciado el celo y es desencadenada por el pico preovulatorio de LH. A la ovulación sigue hemorragia profunda y el folículo se llena de sangre convirtiéndose en cuerpo hemorrágico (Rippe, 2009).

En la formación del cuerpo lúteo (luteinización) se producen una serie de cambios morfológicos y bioquímicos que permiten que las células foliculares se transformen

en células luteales, cambios que finalizan al séptimo día con un cuerpo lúteo funcional (Rippe, 2009)

### **2.5 Fase luteal (diestro)**

Esta fase se caracteriza por el dominio del cuerpo lúteo. El mantenimiento del cuerpo lúteo, así como la síntesis de progesterona está ligada a la hormona LH que es progesterotrófica y luteotrófica. Otras hormonas que intervendrían en la síntesis de progesterona, son la FSH y la PGI<sub>2</sub>. La FSH se uniría a receptores ubicados en el cuerpo lúteo y provocaría un aumento en la secreción de progesterona. En lo referente a la PGI<sub>2</sub> además de estimular a las células luteales para producir progesterona, aumentaría el flujo sanguíneo a nivel ovárico con el efecto positivo que esto significa sobre la síntesis y secreción de progesterona. Si el huevo no es fecundado, el cuerpo lúteo permanece funcional hasta el día 15-20, después del cual regresiona en preparación para un nuevo ciclo estral (Senger, 2003).

### **2.6 Superovulación**

Se denomina superovulación (so) al aumento del número fisiológico de ovulaciones propias de la especie, provocado por la administración de gonadotropinas. En el bovino se considera una respuesta al tratamiento cuando se producen más de dos ovulaciones; el hecho de que la especie bovina sea monovular imposibilita la obtención de varios descendientes de manera natural en corto tiempo a partir de una hembra genéticamente superior (Cabodevila & Torquatri, 2001)

La aplicación de biotecnologías embrionarias requiere el proceso denominado superovulación que se consigue mediante el uso de hormonas exógenas. Esta biotecnología permite la producción de varios embriones en el mismo ciclo estral, difiriendo de la producción unitaria que alcanza una hembra bovina en cada ciclo (Ereno, 2002).

La gran variabilidad en la respuesta a los tratamientos hormonales puede ser influenciada por factores relacionados con los tratamientos y/o en algunos casos, con

factores individuales asociados a las características de la dinámica folicular (Machado, Correa, & Pineschi, 2003)

## **2.7 Factores que afectan la respuesta superovulatoria**

### **2.7.1 Factores farmacológicos**

Depende del Tipo de FSH que se utilice, del producto y potencia, además tiene que ver con la relación de FSH/LH presente en el preparado comercial, la dosis empleada y la frecuencia de administración (Hansen, 2001)

### **2.7.2 Factores externos**

Está relacionado con la Nutrición, el periodo del año o estación, manejo de las hembras donantes y con la calidad del semen (Chenoweth, 2007)

### **2.7.3 Factores fisiológicos**

Estos factores tiene que ver con la especie, la raza en la que se vaya a llevar a cabo el programa de superovulación, la edad, estado, condición corporal de las donantes, el individuo donante, también se considera el estatus fisiológico (lactancia), la fertilidad, la dinámica folicular y las características de las ondas foliculares (Bó, y otros, 2002)

## **2.8 Hormonas empleadas para superovulación:**

Se han usado tres tipos diferentes de gonadotropinas para inducir superovulación: gonadotropinas de extractos de pituitaria de animales domésticos (FSH), gonadotropina coriónica equina (eCG) y gonadotropina menopausica humana (hMG). (Neira, 2010)

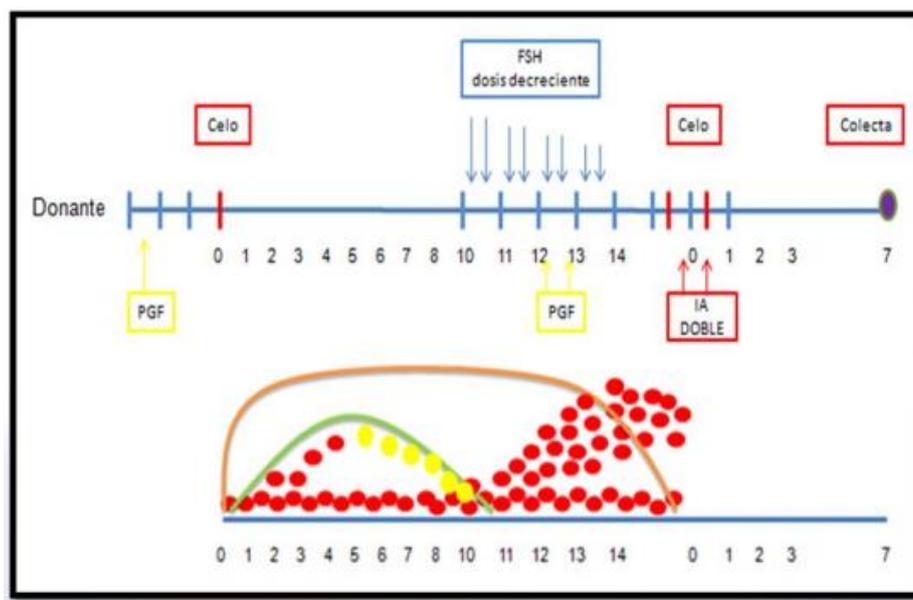
### **2.8.1. Gonadotropinas de extractos de pituitaria de animales domésticos (FSH)**

La mayoría de los preparados de FSH se obtienen a partir de hipófisis de cerdo y de hipófisis de ovino (Gorlach, 2000). La FSH tiene una vida media (2-4 horas) y debe ser inyectada frecuentemente para mantener niveles plasmáticos suficientes e inducir una respuesta superovulatoria. La dosis de FSH-p varía de 18 a 50 mg. Las aplicaciones de FSH-p cada 12 horas son hechas en 4 días consecutivos, haciendo una aplicación cada 12 horas, en dosis fijas o decrecientes por vía intramuscular, los mejores resultados se

han logrado con dosis total alrededor de 32 mg en dosis decrecientes cada 12 horas (Neira, 2010).

Se debe iniciar el tratamiento con FSH-p los días 11 + 3 del ciclo estral, usando una dosis total de 30 a 45 mg, pero fraccionadas y suministrando en forma decreciente durante cuatro a cinco días, de tal manera que el intervalo entre las inyecciones es aproximadamente de 12 horas. La dosis luteolítica  $\text{PGF}_2\alpha$  se administra entre 48 a 72 horas después de iniciado el tratamiento, también se puede aplicar dosis de FSH-p fijas (5mg mañana y tarde) (Leyva, 2001).

Debido a la vida media tan corta de FSH-p se deben aplicar dosis consecutivas en intervalo de 12 horas. Protocolos de superovulación con una intensidad de tratamiento menor no suele tener éxito. La superovulación con FSH-p se sucede, en el caso más sencillo, con 8 dosis idénticas en 4 días consecutivos (por ej., 5mg o 1,0 ml FSH-p por vaca y 3,75 mg o 0,75ml FSH-p por novilla) (Gorlach, 2000).



**Figura 1.** Sincronización y superovulación mediante FHS-p y prostaglandina. (Neira, 2010)

### 2.8.2. Gonadotropina coriónica equina (eCG)

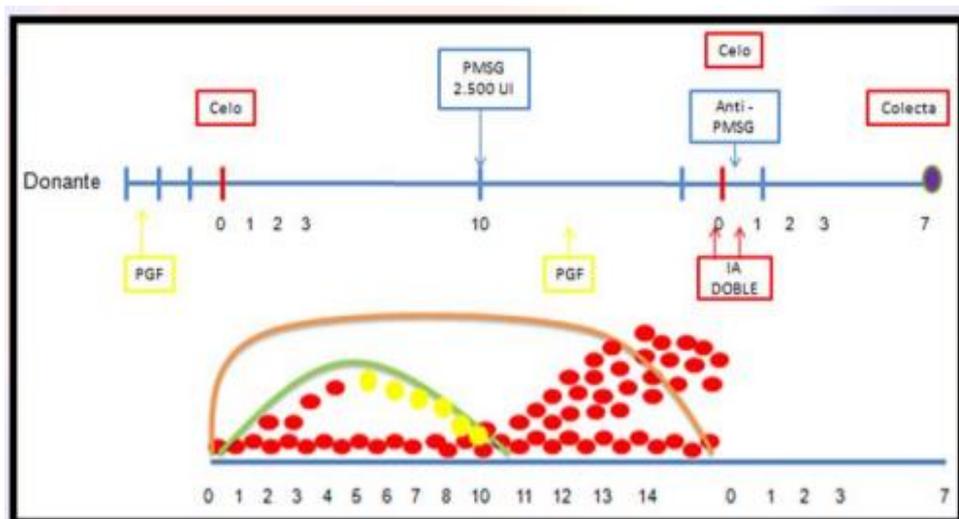
La gonadotropina coriónica equina es una glucoproteína compleja, con actividad tanto FSH como LH, con una vida media en la vaca de 40 horas aproximadamente, persistiendo hasta por 10 días en la circulación sanguínea; por ello es aplicada normalmente en una sola inyección seguida de  $\text{PGF}_2\alpha$  48 h después (Neira, 2010)

La eCG debido a su peso molecular no atraviesa el filtro renal y por lo tanto, tiene larga vida media en la sangre (Capallejas, y otros, 2009)

La larga vida media de la eCG causa también una prolongada estimulación ovárica, folículos no ovulatorios, perfiles hormonales anormales y baja calidad embrionaria. Estos problemas habían sido manejados aceptablemente con el uso de anticuerpos contra la eCG inyectados vía intravenosa al momento de la primera inseminación 12 - 18 horas después del inicio del celo (Barañaño, 2001)

Los anticuerpos contra la eCG ya no se encuentran disponibles comercialmente y por ello es muy raro el uso de eCG hoy en día. Las dosis recomendadas de eCG varían de 1.500 a 3.000 UI/animal, siendo la dosis de 2.500 UI por vía intramuscular la más comúnmente utilizada, la dosis de la PMSG oscila entre 2000 UI para novillas y 3000 UI para vacas (Neira, 2010).

El momento más oportuno para administrar el suero anti-PMSG es luego de producido el pico preovulatorio de LH, en la práctica en el momento de la primera o segunda inseminación artificial, debido a que este reacciona en forma cruzada con las gonadotropinas hipofisiarias y puede interferir con el pico preovulatorio de LH (Capallejas, y otros, 2009)



**Figura 2.** Sincronización y superovulación mediante eCG anti- eCG y prostaglandina.

FUENTE. Tomado de Transferencia de embriones en el ganado vacuno p.23, (Gorlach, 2000)

## **2.9 Principio de la ultrasonografía.**

La ecografía utiliza ondas sonoras de alta frecuencia para obtener imágenes de tejidos blandos y órganos internos (Pierson, Kastelic , & Ginther, 1998), que producen alternativamente los fenómenos de compresión y rarefacción, estas ondas son reflejadas de vuelta hacia un transductor o sonda, compuesto por un cristal piezoeléctrico (al aplicar un campo eléctrico producen sonido) recubierto en ambas caras por electrodos que al ser expuestos a una señal eléctrica, hacen que el cristal se expanda y contraiga con la misma relación que la frecuencia aplicada (3,5, 5,0, 6,5 y 7,5 MHz) (Quintela , Díaz, Herradón, Peña , & Becerra, 2006) y posteriormente son enviadas al ecógrafo donde son analizadas y convertidas en una imagen en escala de grises, que se extiende desde el negro al blanco (Quintelas, 2006).

Las estructuras contenidas por líquidos (folículos, saco vitelino, algunos órganos), que se visualizan en color negro, no reflejan las ondas sonoras, por lo que son denominadas anecogénicas o no ecogénicas, cuando la mayor parte del sonido se refleja hacia el transductor y se refleja una imagen de color blanco, se habla de imagen ecogénica, como en el caso de huesos y aire (Brogliatti, 2000). Los tejidos blandos pueden aparecer en distintas clases de grises así, hiperecogénico define a los tejidos que reflejan más sonido que el tejido circundante (huesos del feto) e hipoecogénico que describe la idea contraria (cuerpo lúteo) (Rosell, 2008)

## **2.10 Anatomía del aparato genital de la hembra bovina**

El sistema reproductor de la hembra está constituido por los órganos internos y externos. Los primeros incluyen el ovario (conocido como la glándula sexual femenina) y al sistema de conductos formados por el oviducto, útero, cérvix y vagina y los segundos están representados por el vestíbulo vaginal y la vulva (Pierre, Martínez, & Méndez, 2001)

### **2.11 Ovarios**

Los ovarios son quizás los órganos más importantes del aparato reproductor de la hembra, ya que en ellos se producen los óvulos (función exocrina) y las hormonas (función endocrina). El ovario mide aproximadamente de 2 a 4 cm de largo por 1 a 2 cm

de ancho y un poco más de un centímetro y medio de espesor en su parte voluminosa, su peso es de 15 a 20 gramos y su forma es ovoidea. En términos generales el ovario, como glándula sexual femenina es la encargada o responsable de organizar y dirigir toda la vida sexual de la hembra, ya que tiene como (función exócrina) la gametogénesis y como (función endócrina) la síntesis de hormonas (Regueiro, 2008)

## **2.12 Examen ecográfico del aparato genital de la hembra bovina**

### **2.12.1 Ovarios**

El examen de los ovarios se realiza en forma similar a la exploración rectal, colocando el transductor a ambos lados del útero y realizando un barrido de la zona hasta localizar los ovarios. Los ovarios son fáciles de explorar, debemos reconocer en ellos las estructuras funcionales: folículos y cuerpo lúteo (Quintelas, 2006)

### **2.12.2 Folículos**

Un folículo ovárico es un pequeño elemento en forma de bolsa en la cual el ovocito es almacenado hasta su maduración y su liberación (Bellenda, 2003).

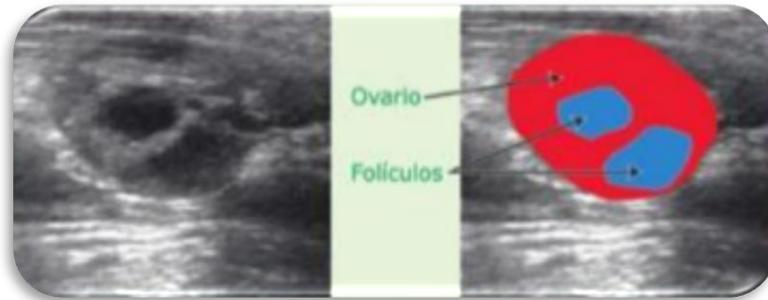
En el examen ecográfico los folículos son visibles como cavidades negras o anecogénicas, con un borde muy fino, y a veces de contorno irregular por la compresión de otras estructuras del ovario. Su tamaño va creciendo durante el ciclo estral de la vaca a razón de 1.5 a 2.5mm por día, llegando el folículo dominante a 15-20 mm en el momento previo a la ovulación (Bellenda, 2003).

Si el peristaltismo intestinal es muy marcado, resulta útil desplazar el ovario hacia el suelo de la pelvis o hacia una pared. Una vez sobre ellos, se debe realizar un barrido de un extremo a otro del ovario, para ver este en su totalidad, ya que de lo contrario, pueden quedar estructuras en planos diferentes que pasen desapercibidas (Bellenda, 2003).

El folículo pasa por diversos estadios:

- folículo primordial,
- folículo primario, (que contiene el ovocito y el epitelio folicular)

- folículo secundario o preantral (en este estadio varias hileras de células de la granulosa forman el *stratum granulosum* y segregan una capa glicoproteica que será la zona pelúcida, inmersas en la teca folicular),
- folículo terciario o antral (el cual contiene una cavidad, el antro folicular y el ovocito se encuentra en un lateral llamado *cumulus oophorus*) y
- folículo de Graaf (el folículo grande ya listo para la ovulación). (Bellenda, 2003)



**Figura 3.** Ovario con dos folículos de 0.8 mm de diámetro

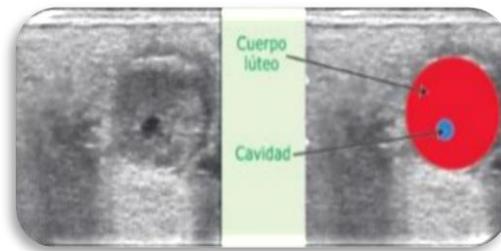
Fuente: Ecografía y reproducción en la vaca (Quintelas, 2006).

### 2.12.3 Cuerpo lúteo

El cuerpo lúteo es una glándula endocrina que se desarrolla dentro del ovario de forma temporal y cíclica, tras la ovulación.

En el examen ecográfico el cuerpo lúteo (CL) se mostrará como una imagen de forma circular con una cabeza , más o menos prominente sobre la superficie del ovario, y en un tono gris oscuro, en su interior se puede apreciar una pequeña cavidad con líquido. (fig. 4) o bien una banda blanca que lo atraviesa de un extremo al otro (Bellenda, 2003)

El cuerpo Lúteo (CL) se identifica a partir de 2 o 3 días después de la ovulación, y crece 1-2 mm por día, hasta su máximo tamaño 7 a 12 días post -ovulación. Aparece más bien grisáceo, y muchas veces con una pequeña cavidad central con líquido y alguna trabécula visible (60-70%), y son a veces mal llamados cuerpos lúteos quísticos (ya que no poseen efecto significativo sobre la fertilidad, ni sobre la duración del ciclo, ni en la concentración plasmática de progesterona, respecto de los no cavitarios) (Quintelas, 2006)



**Figura 4.** Cuerpo lúteo con cavidad

Fuente: Ecografía y reproducción en la vaca (Quintelas, 2006).

#### 2.12.4 Quistes Ováricos

Los quistes ováricos se definen como estructuras llenas de fluido anovulatorio de  $\geq 2.5$  mm de diámetro que persisten en los ovarios por más de diez días (Saharrea, 1999). Los quistes ováricos en las vacas lecheras se mencionan como la causa principal de pérdida económica y disfunción reproductiva en producciones lecheras, la incidencia reportada de quistes ováricos en vacas lecheras varía de 10 a 13%, y los hatos con problemas pueden tener una incidencia mucho mayor (30 a 40 %) durante periodos cortos (Hernández, 1999). Los quistes ováricos se pueden clasificar como foliculares o luteales (Hernández, 1999).

Los quistes foliculares son de paredes delgadas, llenos de líquido, estructuras ováricas  $\geq 2.5$  mm de diámetro, muchas vacas exhiben más de una estructura quística en uno o en ambos ovarios en cualquier momento después de los 40 días postparto y la presentación de celo anormal y corto, con una conducta estral intensa y prolongada a la que se le denomina ninfomanía que resulta de la baja progesterona debido a la ausencia de un cuerpo lúteo funcional e incremento de estradiol de los folículos quísticos (normalmente el estradiol de un folículo preovulatorio inicia una cascada de sucesos endócrinos que inducen la ovulación), en este caso la cascada endocrina no se acopla y la progresión normal al ciclo de estro se interrumpe causando infertilidad. La etiología de los quistes foliculares es difícil de estudiar porque es impredecible al inicio de la formación de quistes dentro de los individuos (Ávila & Cruz, 2009)



**Figura 5.** Quiste Folicular

Fuente: Ecografía y reproducción en la vaca (Quintelas, 2006)

Los quistes lúteos son de paredes gruesas, estructuras llenas de fluido de  $\geq 2.5$  mm de diámetro que secretan cantidades normales o mayores que las normales de progesterona. La mayoría de quistes lúteos probablemente se forman mediante la luteinización de un quiste folicular y pueden causar infertilidad si persisten y mantienen progesterona sistémica en concentraciones que impiden el incremento de LH y la ovulación. Los quistes lúteos no deben confundirse con cuerpo lúteo aunque se trata de la misma manera con prostaglandinas (Ávila & Cruz, 2009)

### **CAPÍTULO III**

#### **MATERIALES Y METODOLOGÍA**

#### **3.1 Ubicación del área de investigación**

##### **3.1.1 Ubicación política**

El ensayo en campo se realizó en la hacienda Zoila Luz de la Carrera de Ingeniería Agropecuarias IASA II – Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE:

Ubicación referencial:	Hda. Zoila Luz km 24 vía Santo Domingo-Quevedo.
Parroquia:	Luz de América
Cantón:	Santo Domingo de los Colorados.
Provincia:	Santo Domingo de los Tsáchilas.

##### **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)

### 3.1.4 Características climáticas

Temperatura media anual:	23.6 °C
Precipitación media anual:	2980 mm/año
Heliofanía media anual:	660 h/luz/año
Humedad relativa:	91%

## 3.2 Materiales

### 3.2.1 Material experimental

Vacas donantes en estado reproductivo para superovular, no gestantes, sobre los dos meses post-parto sin ternero al pie y vaconas vientre.

El número de identificación de las vacas que se utilizaron son: 94, 114, 172, 169, 11927, 180, 92 y 178 (8 en total).

### 3.2.2 Material complementario

#### 3.2.2.1 Materiales para sincronización de celo, superovulación e inseminación artificial

- Hormonas: prostaglandina, implantes vaginales de progestágeno, estradiol, GnRH, FSHp y eCG
- Semen importado de reproductores Gyrholando, Jersey, holstein rojo y negro para ser utilizado según el fenotipo y genotipo de las donantes
- Jeringuillas desechables de 5 ml
- Dispositivo para implante vaginal de progesterona
- Guantes quirúrgicos y de ginecología bovina
- Pistola para inseminación artificial
- Catéteres de inseminación artificial

#### 3.2.2.2. Materiales para la esterilización, higiene y limpieza

- Estufa de esterilización
- Toallitas desinfectantes
- Cepillos de limpieza
- Jabón neutro
- Detergente fenólico

- Alcohol etílico al 70°

### **3.2.2.3 Equipos.**

- Ecógrafo
- Sonda transrectal

## **3.3 Métodos**

La secuencia del procedimiento de esta investigación se basó en los siguientes pasos: Se inició con el pesó de los animales y la división de dos grupos de cuatro animales para cada protocolo; posteriormente se les aplicó manejo adecuado en la nutrición, sanidad y bienestar a todas las donantes. A los 45 días posteriores, se monitorearon a las reproductoras, su sistema reproductivo para determinar su estado reproductivo, concerniente al desarrollo folicular; luego de ello se realizó la sincronización de los celo mediante la aplicación de un dispositivo vaginal de progesterona más inyecciones de estradiol y progestágeno. Cuatro días posteriores se inició la aplicación de las hormonas superovulatorias (FSHp y eCG) e inseminación artificial en ambos grupos. 7 días post inseminación artificial se efectuó la cosecha de los embriones. Desde la aplicación del tratamiento superovulatorio hasta el día de la inseminación se hizo el análisis ecográfico del desarrollo folicular; de la misma manera, pre rescate de los embriones se determinó ecográficamente, la calidad y cantidad de los cuerpos lúteos a través de su diámetro y la intensidad del color; el objetivo principal es la correlación que existe entre el número de CL y el número de embriones producidos en las donantes. La ecografía permite diagnosticar la presencia de otras patologías como quiste foliculares que generalmente se presentan en los procesos superovulatorios.

Después de culminada la primera fase, las donantes de embriones entraron en un nuevo período de recuperación y tratamientos nutricionales a igual que sanitarios. Para la segunda repetición los tratamientos se invirtieron en los grupos de las reproductoras.

## **3.4 Diseño experimental**

### **3.4.1 Factores**

Los factores a medir en la investigación fueron la caracterización de las estructuras ováricas antes durante y después de la aplicación de los protocolos superovulatorios y

pre rescate de los embriones respectivamente, determinados en el número y tamaño de folículos y cuerpos lúteos

### **3.4.2 Tratamientos**

Para el estudio se aplicaron los siguientes tratamientos:

T1: protocolo 1 (FSHp)

T2: protocolo 2 (eCG)

### **3.4.3 Análisis estadístico**

Se aplicó una “Prueba t Pareada” a un nivel de significancia de 5 %

### **3.4.4 Variables a medir**

#### **3.4.4.1 Número de folículos:**

Consistió en determinar el número de folículos visibles en cada ovario y en cada donante, esto con la ayudada del ecógrafo y de la sonda transrectal en el día 0 y 1, siendo esta la línea base para la investigación, y luego del 4 al 7 que es el tiempo donde actúa la hormona superovulatoria.

#### **3.4.4.2 Tamaño de los folículos:**

Consistió en determinar el tamaño de folículos visibles a la ecografía en cada ovario y en cada donante, siendo esta la línea base para la investigación, según Bellenda (2003) los folículos crecen de 1,5 a 2 mm por día hasta llegar a 15 – 20 mm al momento de la ovulación

#### **3.4.4.3 Número de cuerpos lúteos:**

Consistió en determinar el número de los cuerpos lúteos visibles en cada ovario y en cada donante, esto con la ayudada del ecógrafo y de la sonda transrectal en el día del pre rescate de los embriones.

#### **3.4.4.4 Tamaños de los cuerpos lúteos:**

Consistió en determinar el tamaño de los cuerpos lúteos visibles a la ecografía en cada ovario y en cada donante, al momento de los lavados.

### **3.5 Métodos y procedimientos del manejo del experimento**

#### **3.5.1 Preparación de Donantes**

El grupo de donantes los constituyeron vacas en lactancia sin ternero al pie y/o vacas venteras. Se manejaron registros individuales de cada una donde se incluyó el peso para determinar la condición corporal; con el apoyo de un ecógrafo se evaluó el estado reproductivo

El agua que se suministró a voluntad, la alimentación con niveles adecuados de proteína (sobrealimentación 15 % de proteína, 1 kg día) con pasturas frescas en rotación diaria.

- ✓ Se hizo un manejo sanitario adecuado incluyendo vacunas, vitaminas, desparasitación, minerales, entre otros.

#### **3.5.2 Transcurrido los 45 días del período de manejo de las donantes**

Una vez transcurrido el tiempo de preparación se hizo un examen ginecológico para determinar la presencia de cuerpo lúteo lo que determinó el orden de sincronización, luego de esto se inició con los siguientes protocolos de superovulación:

**Cuadro 1.** Protocolo superovulatorio con FSH-p  
**Protocolo 1 (con FSHp)**

<b>Día</b>	<b>Producto</b>	<b>Dosis</b>	<b>Hora</b>	<b>Vía de administración</b>
<b>0</b>	Implante CIRD	1,38 g de	En la mañana	
	Benzoato de	progesterona		I.M.
	estradiol	2 mg (2 ml)		I.M.
	Progesterona	50 mg (2 ml)		
<b>4</b>	FSH-p	40 mg (2 ml)	am	I.M.
	FSH-p	40 mg (2 ml)	pm	I.M.
			(intervalo de 12 h)	
<b>5</b>	FSH-p	30 mg (1,5 ml)	am	I.M.
	FSH-p	30 mg (1,5 ml)	pm	I.M.

<b>6</b>	FSH-p	20 mg (1 ml)	am	I.M.
	Prostaglandina (PGF2 $\alpha$ )	50 mg (2 ml)	am	I.M.
	<u>Retiro del implante</u>	20 mg (1 ml)	pm	I.M.
	FSH-p PGF2 $\alpha$	50 mg (2 ml)	pm	I.M.
<b>7</b>	FSH-p	10 mg (0,5 ml)	am	I.M.
	FSH-p	10 mg (0,5 ml)	pm	I.M.
<b>8</b>	CELO	I.A	am	
	Fertagyl	5 ml	am	
		I.A	pm	
<b>15</b>	Colecta de embriones, selección, envasado y crio preservación	-	-	-

## Cuadro 2 Protocolo superovulatorio con eCG

### Protocolo 2 (con eCG)

<b>Día</b>	<b>Producto</b>	<b>Dosis</b>	<b>Hora</b>	<b>Vía de administración</b>
<b>0</b>	Implante CIRD	1,38 g de progesterona	En la mañana	
	Benzoato de estradiol	2 mg (2 ml)		I.M.
	Progesterona	50 mg (2 ml)		I.M.
<b>4</b>	eCG	600 UI	am	I.M.
<b>6</b>	Prostaglandina	50 mg (2 ml)	am	I.M.
<b>7</b>	Retiro del implante		am	
	GnRH	25 mg (3ml)	pm	I.M.

8	CELO	I.A	am pm
15	Colecta de embriones, selección, envasado y crio preservación	-	-

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

#### 4.1 Línea base

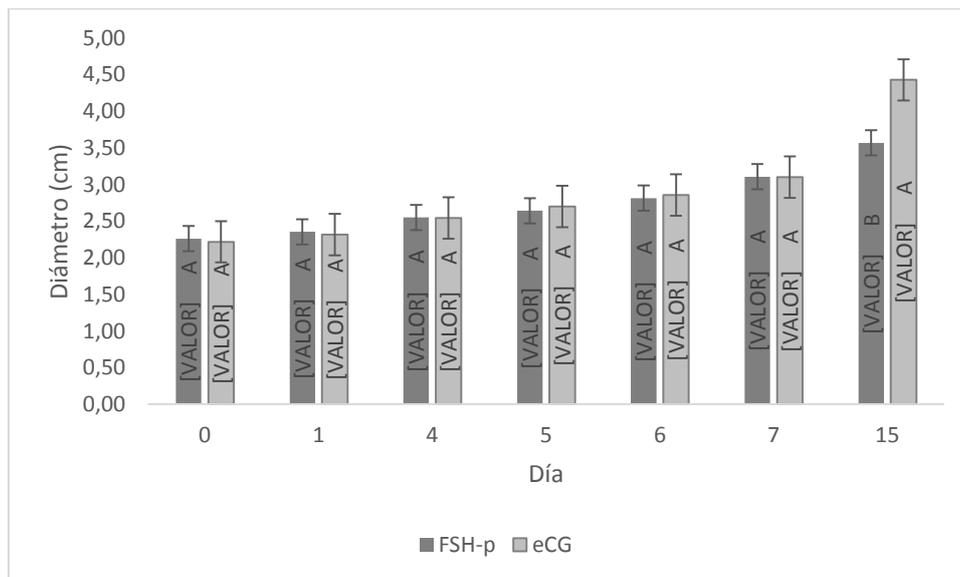
La finalidad de este análisis fue determinar la línea base para iniciar los tratamientos, en base al estudio primario con que se encontraban los folículos ováricos de las unidades experimentales. Se lo hizo tanto en la primera; como en la segunda fase, realizándose tres y dos observaciones respectivamente, con la ayuda del ecógrafo con lo que se determinó que las vacas donantes se encuentren ciclando normalmente teniendo folículos funcionales en sus diferentes fases como lo menciona Bellenda, (2003), ocurriendo tanto en el ovario izquierdo como en el derecho de cada unidad experimental. Con esto se obtuvieron los resultados observados a continuación.

#### 4.2 Resultados de los tratamientos superovulatorios

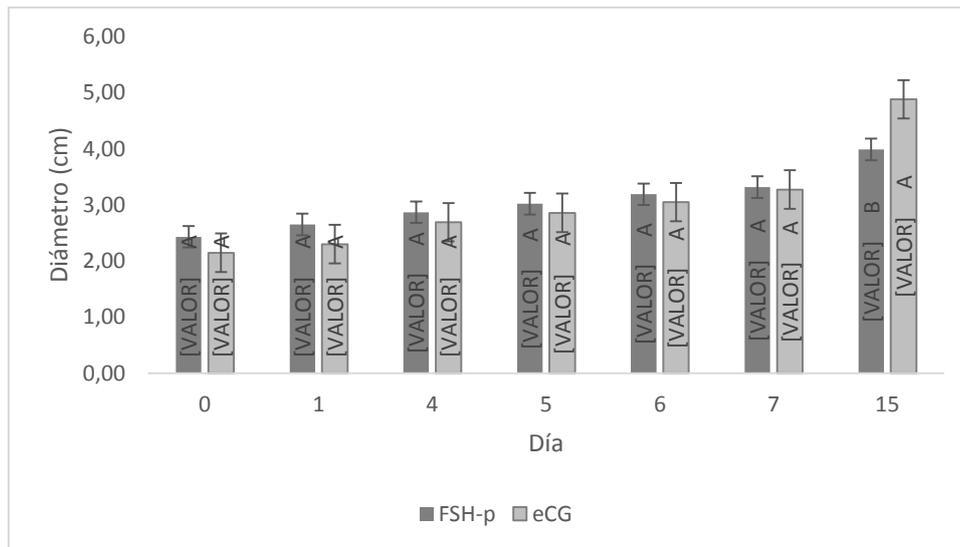
### 4.2.1 Ovarios

**Cuadro 3.** Promedios del diámetro de los ovarios de las vacas donantes en cm, sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG).

Día	Ovario Izquierdo			Ovario Derecho		
	FSH-p	eCG	Significancia	FSH-p	eCG	Significancia
0	2,26	2,22	Ns	2,43	2,15	ns
1	2,35	2,32	Ns	2,65	2,30	ns
4	2,55	2,54	Ns	2,87	2,69	ns
5	2,64	2,70	Ns	3,02	2,86	ns
6	2,81	2,86	Ns	3,19	3,05	ns
7	3,10	3,10	Ns	3,32	3,27	ns
15	3,57	4,43	*	3,99	4,88	*



**Figura 6.** Promedio del diámetro de los ovarios izquierdos de las vacas donantes en cm sometidas a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG)



**Figura 7.** Promedio del diámetro de los ovarios derechos de las vacas donantes en cm sometidas a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG)

En el cuadro 3, se puede observar que hasta el día 7 de control no se halló diferencias significativas en los resultados del tamaño de los ovarios, entre los tratamientos. Sin embargo en el día 15 de control se observa que hay diferencia significativa tanto en el ovario derecho como en el izquierdo (ver Figura 6 y 7), dicho resultado se asemeja con aquellos obtenidos por Capallejas, y otros, (2009) quienes manifiestan que la eCG debido a su peso molecular, tiene larga vida media en la sangre, lo que causa una prolongada estimulación ovárica por ende el continuo crecimiento de sus estructuras.

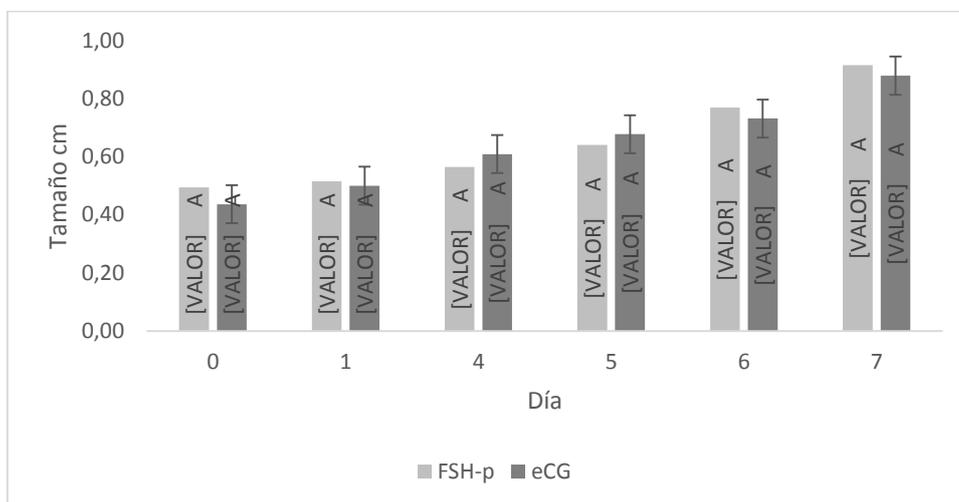
#### 4.2.2 Folículos

##### 4.2.2.1 Tamaño de folículos

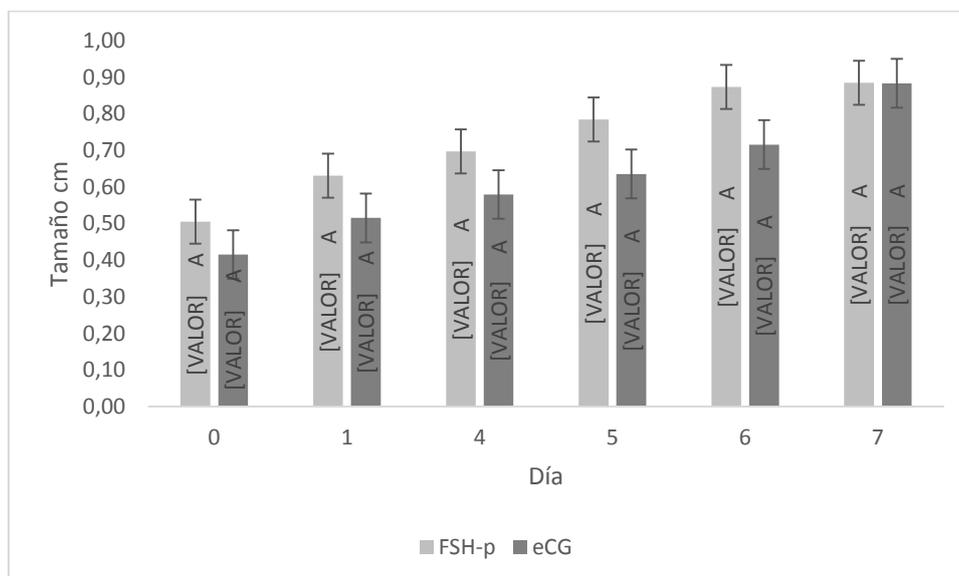
**Cuadro 4.** Promedios del diámetro de los folículos de los ovarios de las vacas donantes en cm sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG)

Día	Ovario Izquierdo			Ovario Derecho		
	FSH-p	eCG	Significancia	FSH-p	eCG	Significancia
0	0,49	0,44	ns	0,51	0,42	ns
1	0,52	0,50	ns	0,63	0,52	ns

4	0,57	0,61	ns	0,70	0,58	ns
5	0,64	0,68	ns	0,78	0,64	ns
6	0,77	0,73	ns	0,87	0,72	ns
7	0,92	0,88	ns	0,88	0,88	ns



**Figura 8.** Promedios del diámetro de los folículos de los ovarios izquierdos de las vacas donantes en cm sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG)



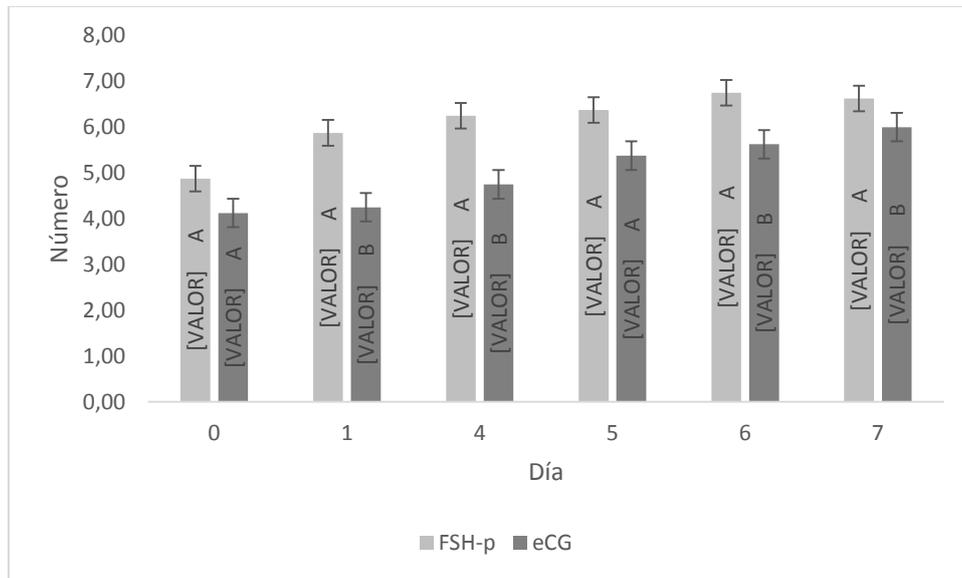
**Figura 9.** Promedio del diámetro de los folículos de los ovarios derechos de las vacas en cm sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG)

En el cuadro 4, se observa que hasta el día # 7 del control, no se halló diferencias significativas en los resultados del tamaño de los folículos, entre los tratamientos (ver Figura 8 y 9), dicho resultado se asemeja con aquellos obtenidos por Costa, y otros, (2013), los mismos que demuestran que no existe diferencia significativa en el tamaño del folículo al aplicar dos tratamientos con P4+BE+PgF2 $\alpha$ +FSHp y P4+BE+PgF2 $\alpha$ +eCG, además datos obtenidos por (Ospina & Augusto, 2013) afirman que no existe diferencias significativas en el tamaño folicular entre dos tratamientos el T1 (P4+PGF2 $\alpha$ +GnRh+FSHp) y el T2 (P4+PGF2 $\alpha$ +GnRh+eCG).

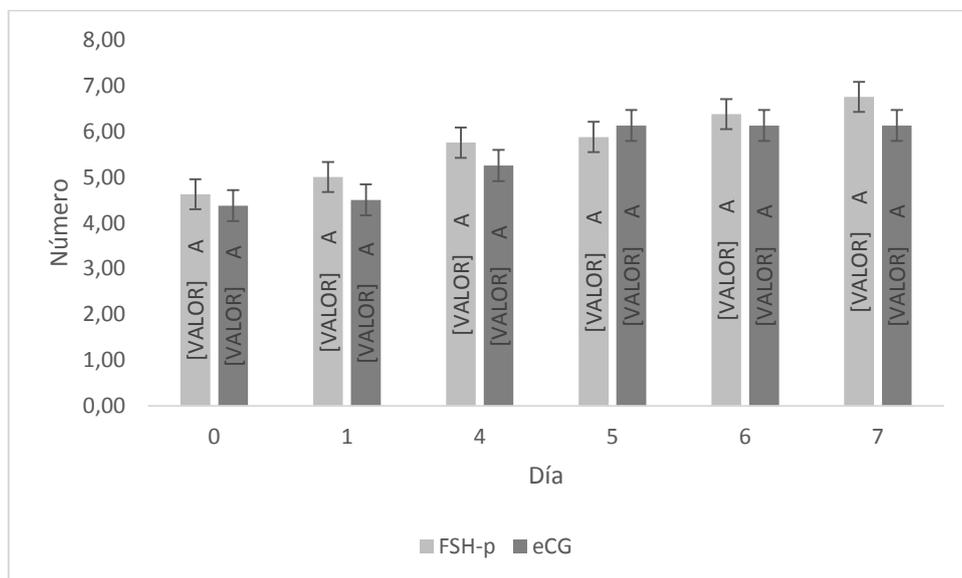
#### 4.2.2.2 Número de folículos

**Cuadro 5.** Promedio del número de folículos de los ovarios de las vacas donantes sometidos a dos protocolos superovulatorios con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG)

Día	Ovario Izquierdo			Ovario Derecho		
	FSH-p	eCG	Significancia	FSH-p	eCG	Significancia
0	4,88	4,13	Ns	4,63	4,38	ns
1	5,88	4,25	*	5,00	4,50	ns
4	6,25	4,75	*	5,75	5,25	ns
5	6,38	5,38	Ns	5,88	6,13	ns
6	6,75	5,63	*	6,38	6,13	ns
7	6,63	6,00	*	6,75	6,13	ns



**Figura 10.** Promedio del número de folículos de los ovarios izquierdos de las vacas donantes sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG)



**Figura 11.** Promedio del número de folículos los ovarios derechos de las vacas donantes sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas (FSH-p y eCG)

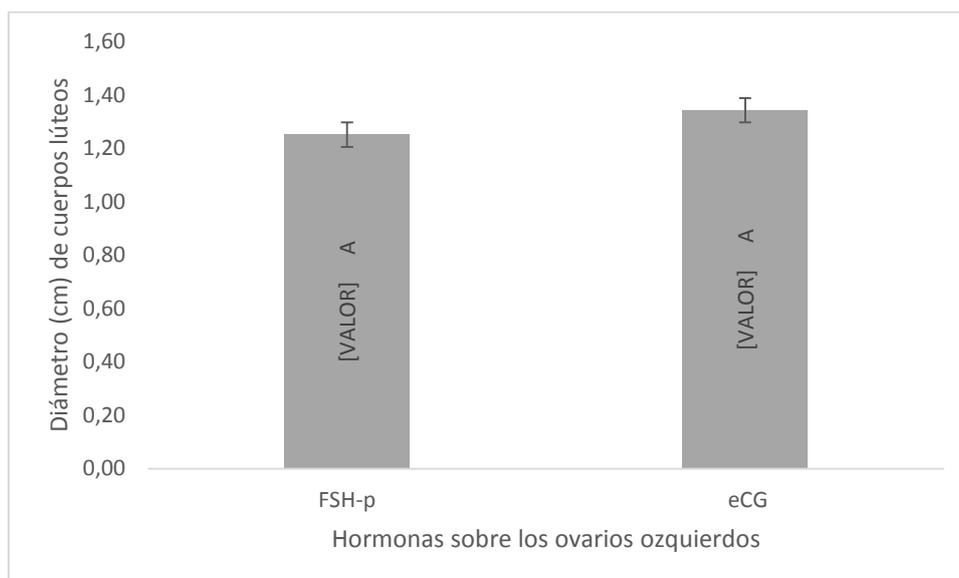
En el cuadro 5 se observa que hay diferencias significativas en lo que respecta al número de folículos del ovario izquierdo, sin haber diferencia en el ovario derecho (ver Figura 10 y 11), siendo mayor el número de folículos para la hormona FSH-p, dicho resultado difieren con los obtenidos por De Rensis & López, (2014) quienes afirman que la administración de eCG provoca un mayor número de folículos, esta diferencia mostrada entre la investigación y otros autores se debe a que la eCG, tiene larga vida media en sangre según Capallejas, y otros, (2009), por lo que es posible que los folículos sigan aumentando en número aún después del tiempo de evaluación hecha por la investigación, lo que confirmaría lo que De Rensis & López, (2014) mencionaron en sus estudios.

### 4.2.3 Cuerpo lúteo

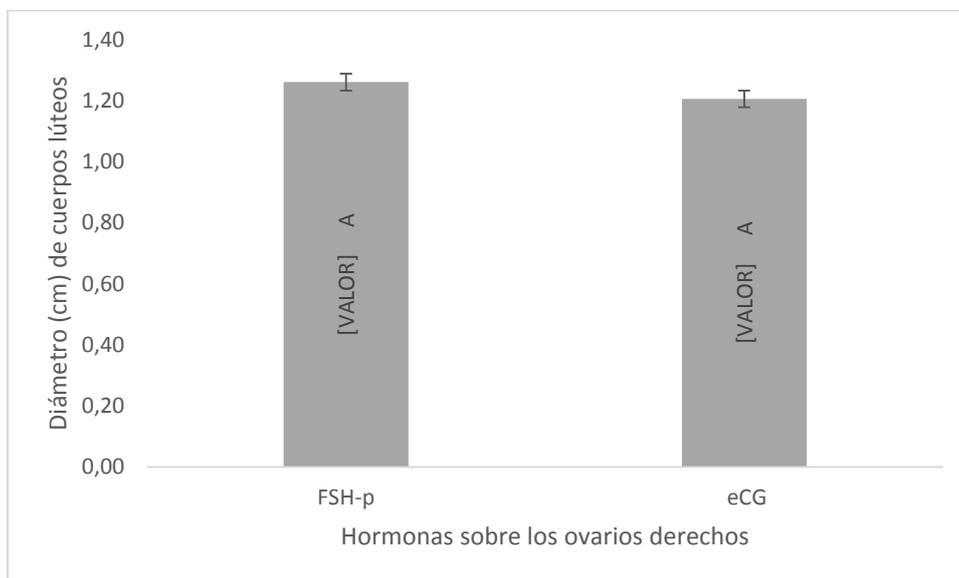
#### 4.2.3.1 Tamaño de los cuerpos lúteos

**Cuadro 6.** Promedios del diámetro de los cuerpos lúteos de los ovarios de las vacas donantes en cm, sometidos a dos protocolos superovulatorios con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG)

Día	Ovario izquierdo			Ovario Derecho		
	FSH-p	eCG	Significancia	FSH-p	eCG	Significancia
15	1,25	1,34	ns	1,26	1,21	ns



**Figura 12.** Promedios del diámetro de los cuerpos lúteos al día 15 de los ovarios izquierdos de las vacas donantes en cm, sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG).



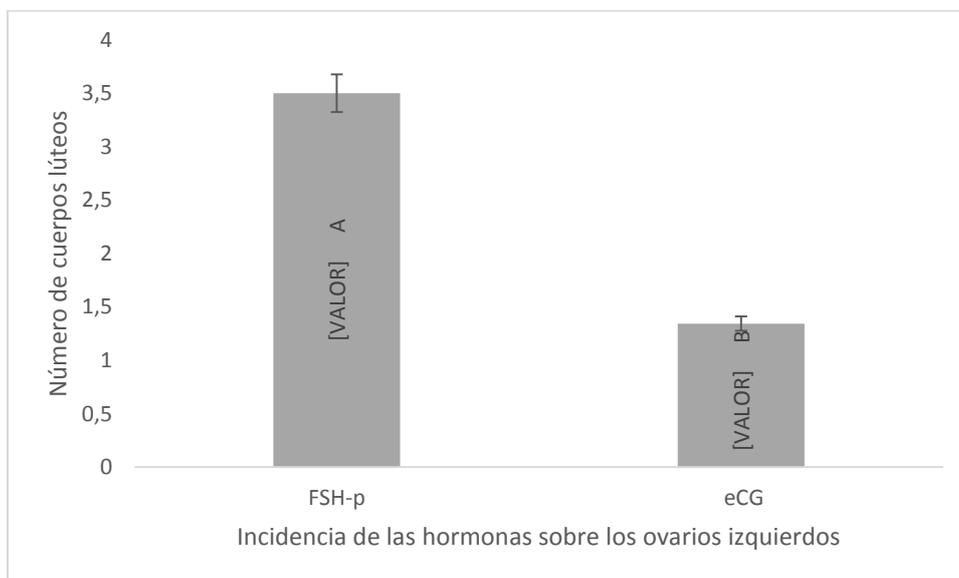
**Figura 13.** Promedios del diámetro de los cuerpos lúteos al día 15 de los ovarios derechos de las vacas donantes en cm, sometidos a dos protocolos de superovulación con dos hormonas (FSH-p y eCG)

En cuadro 6 se observa el diámetro de los cuerpo lúteos; cabe recalcar que no hay diferencia significativa entre los tratamientos (ver Figura 12 y 13), esto es similar a lo que Capallejas, y otros, (2009) realizaron en sus investigaciones.

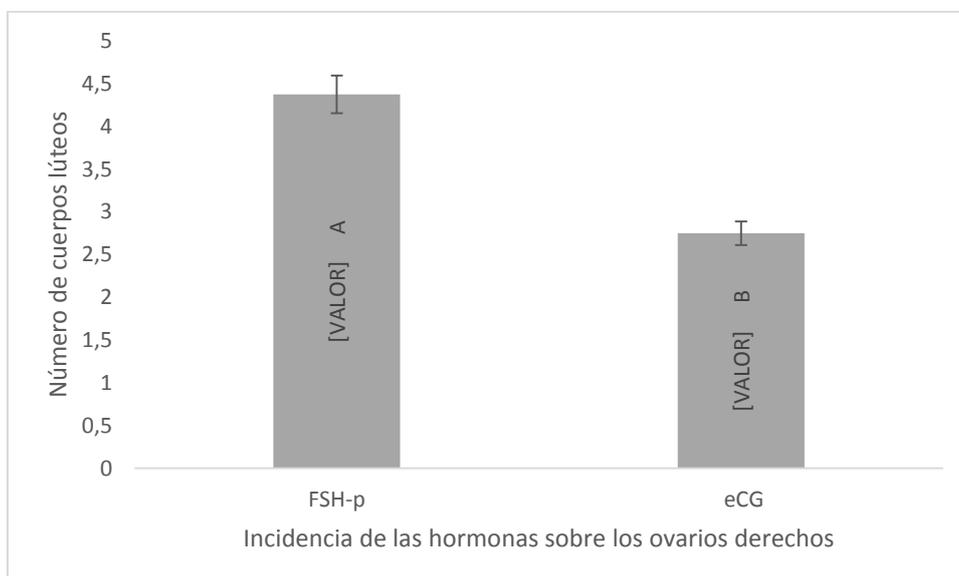
#### 4.2.3.1 Número de cuerpos lúteos

**Cuadro 7.** Promedios del número de los cuerpos lúteos de los ovarios de las vacas donantes, sometidas a dos protocolos superovulatorios con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG)

Día	Ovario izquierdo			Ovario Derecho		Significanci a
	FSH-p	eCG	Significancia	FSH-p	eCG	
15	3,5	1,34	*	4,375	2,75	*



**Figura 14.** Promedios del número de los cuerpos lúteos al día 15 de los ovarios izquierdos de las vacas donantes, sometidas a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG)



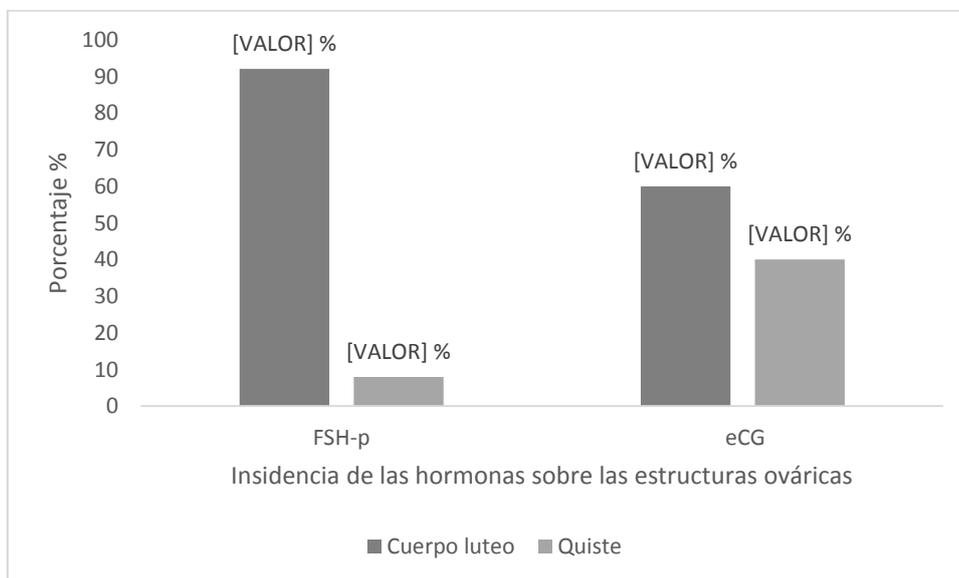
**Figura 15.** Promedios del número de los cuerpos lúteos al día 15 de los ovarios derechos de las vacas donantes, sometidas a dos protocolos de superovulación con dos hormonas diferentes (FSH-p y eCG).

En el cuadro 7, se aprecia que hay diferencia significativa entre los tratamientos, obteniendo mayor número de cuerpos lúteos el protocolo empleado FSH-p (ver Figura 14 y 15), el número de cuerpos lúteos promedios obtenidos en el tratamientos con eCG son inferiores a los obtenidos por Callejas, (2005), que obtuvieron  $7,6 \pm 0,8$  cuerpos lúteos en promedio entre vacas. No obstante son inferiores a los obtenidos por (Cifuentes, 2005) con  $13,7 \pm 0,9$  cuerpos lúteos empleando tres razas (europea, cebuina y europea/cebuina) y 200UI de eCG (Callejas, 2005).

#### 4.2.4 Otras estructuras presentes

##### 4.2.4.1 Quistes foliculares

Cabe destacar que generalmente Para su mejor apreciación se comparó el número de quistes formados por ovario de vaca donante con el número de cuerpos lúteos, estas estructuras se las presenció en el día 15 de Iniciado los protocolos superovulatorios, por ende su comparación, arrojó el siguiente análisis:



**Figura 16.** Porcentaje de las estructuras ováricas de las vacas donantes presentes al día 15 de los tratamientos superovulatorios.

Como se observa en la Figuras 16, el protocolo con la hormona eCG, tiene un porcentaje superior en quistes (40 %) comparado con el protocolo con la hormona FSH-p (8 %), esto se puede atribuir a que la eCG debido a su peso molecular no atraviesa el

filtro renal y por lo tanto, tiene larga vida media en la sangre según Capallejas, y otros, (2009), esto causa una prolongada estimulación ovárica, folículos no ovulatorios, perfiles hormonales anormales, formación de quistes y baja calidad embrionaria (Capallejas, y otros, 2009).

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### **5.1 Conclusiones**

- ✓ De la Investigación realizada se concluye que se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alternativa en la que se define que existe diferencia significativa en las estructuras ováricas post aplicación de los protocolos hormonales comparativos entre FSH\_p y eCG en la superovulación.
- ✓ Al culminar con la investigación, se puede concluir que hasta el día siete de control, la variable, del tamaño de los folículos ovaricos (derecho e izquierdo), no presenta diferencia significativa entre el protocolo 1 (T1) y el protocolo 2 (T2); con respecto al número de folículos en el protocolo 1 (T1), este fue el tratamiento que presentó mayor número en el ovario izquierdo, por lo que hay diferencia significativa al compararlo con el protocolo 2 (T2).

- ✓ En la variable “diámetro del cuerpo lúteo”, no hay diferencia significativa entre los protocolos 1 (T1) y protocolo 2 (T2), mientras que la variable “número de cuerpos lúteos” presenta diferencia significativa en ambos ovarios (derecho e izquierdo), obteniéndose mayor número de cuerpos lúteos en el protocolo 1 (T1).
- ✓ Las unidades experimentales tratadas con la hormona eCG, el número de quistes fue superior tanto en diámetro como en número, esto se atribuye a que la eCG, debido a su peso molecular no atraviesa rápidamente el filtro renal y por lo tanto, tiene larga vida media en la sangre mencionado por Capallejas, y otros, (2009), provocando desarrollo folicular sin producirse la ovulación en algunos folículos, llegando a formarse quistes, según Ávila & Cruz, (2009) los quistes foliculares resultan de la baja producción de progesterona y por ende de una elevación de la LH debido al incremento de estradiol de los folículos quísticos, que al estar presentes interrumpen el ciclo estral produciendo celos múltiples (Callejas, 2005).
- ✓ Se socializó los resultados obtenidos con estudiantes del “Colegio Nacional Técnico Agropecuario Luz de América”.

## **1.6. Recomendaciones**

- ✓ Por los resultados obtenidos en la presente investigación, se recomienda la utilización de la hormona de FSH<sub>p</sub> (protocolo 1- T1) manejado con exactitud en la aplicación.
- ✓ Se recomienda la realización de tratamientos superovulatorios con eCG combinado con FSH<sub>p</sub>, para determinar si favorece la respuesta superovulatoria.
- ✓ Realizar nuevas investigaciones que permitan evaluar diferentes compuestos hormonales para buscar una nueva forma de mejorar los índices reproductivos, especialmente en hembras bovinas de raza Gyr y Girolando, sometidas a estos programas reproductivos.

- ✓ Se recomienda emplear un mayor número de vacas donantes, con el fin de comparar con otros protocolos y que las investigaciones sean más fehacientes.

### 5.3 Bibliografía:

Ávila, J., & Cruz, G. (2009). *Quiestes Ováricos*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.

Baraňao, L. (2001). *Biotecnología en Reproducción Animal*. Brasil.

Bellenda. (2003). *Ecografía Aplicada a la Reproducción en Especies de Interés Productivo*. Montevideo - Uruguay: Ecografía Bovina.

Bellenda, O. (2016). Sincronización de celo en vacas. *Ganado Lechero del Trópico* (pág. 3). Santo Domingo: Alexagro.

- Bó, G., & Caccia, M. (2001). *Examinación ultrasonográfica del tracto reproductivo bovino*. Córdoba: Curso de Post-Grado en Reproducción Bovina, (IRAC).
- Bó, G., Baruselli, P., Moreno, D., Cutaia, L., Caccia, M., Tribulo, R., & Mapletoft, R. (2002). *The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle*. Theriogenology.
- Brogliatti, G. (2000). *Transvaginal ultrasound guided oocyte collection in prepubertal calves*. Theriogenology.
- Cabodevila, J., & Torquatri, S. (2001). *Superovulación de Hembras Bovinas*. Argentina: Biotecnología de la Reproducción.
- Callejas. (2005). *Fisiología del ciclo estral bovino*. U. y. S.A.
- Capallejas, S., Cabodevila, S., Palma, G., Alberio, R., Torquati, S., & Butler, H. (2009). *Grupo de Biotecnología de la Reproducción Superovulación y Transferencia de Embriones Bovinos*. Brasil: INTA.
- Chenoweth, P. (2007). *Influence of the male on embryo quality*. Theriogenology.
- Cifuentes, J. (2005). *Utilización de tratamientos hormonales para la sincronización de receptoras de embriones*. Producción Animal.
- Cordoba, A. (2011). *Superovulación de hembras bovinas: alternativas para reducir el número de inyecciones de FSH*. Cuenca: Universidad de Cuenca.
- Costa, R., Bourg, M., Ferreira, J., Toledo, A., Mendes, L., & Ferreira, B. (2013). *Reproductive parameters of Sindhi cows treated with two ovulation synchronization protocols*. Brasil: Zootécnia.
- De Rensis, F., & López, F. (2014). *Use of Equine Chorionic Gonadotropin to Control Reproduction of the Dairy Cow*. EUA: A Review. Reproduction in Domestic.
- Eligio, T. (2000). *Síntesis bacteriana y modificación de polihidroxicanoatos para liberación controlada de hormonas*. Río de Janeiro: Universidad Estatal del Norte Fluminense.
- Ereno, R. (2002). *Dinámica Folicular en Bovinos*. Sao Paulo: Universidad Estatal Paulista.

- Gordón, E. (2016). *Evaluación en la calidad y cantidad de embriones de dos protocolos de superovulación*. Sangolquí: Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- Gorlach, A. (2000). *Transferencia de Embriones en el Ganado Vacuno*. Zaragoza: Acribia.
- Hansen, S. (2001). *Factores que influyen en los sucesos de transferencia de embriones*. Colombia: Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia .
- Haro, R. (2003). *Informe sobre recursos zoogenéticos del Ecuador*. Quito: Ministerio de la Agricultura y la Ganadería.
- Hernández, C. (1999). *Puerperio Fisiológico y Patológico* . Mejoramiento Animal Reproducción Bovinos.
- INEC. (2014). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC - 2014*. Quito: INEC.
- Leyva, C. (2001). *Transferencia no Quirúrgica de Embriones en el Ganado Bovino*. Madrid.
- Machado, L., Correa, M., & Pineschi, L. (2003). *Alternativas hormonales para programas de transferencia de embriones en Bovinos*. Brasil: Ufpel.
- MAE. (2013). *IMPLEMENTACIÓN DE BUENAS PRÁCTICAS PARA EL MANEJO ADAPTATIVO DEL SISTEMA PECUARIO Y LA CONSERVACIÓN DEL ECOSISTEMA PÁRAMO EN LA MICROCUENCA DE PAPALLACTA*. Papayacta: ecopar.
- MAGAP. (2015). *agricultura.gob*. Obtenido de agricultura.gob:  
<http://www.agricultura.gob.ec/llegan-primeras-reses-desde-paraguay/>
- Motta, P., Ramos , N., Gonzáles, C., & Castro, E. (2011). *Dinámica Folicular en la vida reproductiva de la hembra bovina*. Vet zootec.
- Neira, J. (2010). *Reproducción Módulo Hembra Bovina*. Memorias Curso de Graduación en Buiatria.

- Ortiz, H. (2008). *Evaluación reproductiva y productiva del hato lechero Holstein Friesian de la Hacienda San Luis durante el periodo 2002 - 2006*. Riobamba: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.
- Ospina, A., & Augusto, C. (2013). *Efecto de la eCG, sobre el crecimiento del folículo preovulatorio y la tasa de preñez pos IATF, en vacas y novillas normando*. Cordoba: Obtenido de Universidad Nacional de Cordova IRAC.
- Perea, F. (2005). *Manual de Ganadería Doble Propósito: Ecografía Reproductiva*. Trujillo: Universidad de los Andes.
- Pierre, M., Martínez, B., & Méndez, M. (2001). *Uso de la Ecografía en la Reproducción del Ganado Vacuno*. Frisona Española: Temario del Criador.
- Pierson, R., Kastelic, J., & Ginther, J. (1998). *Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses*. EUA: Theriogenology.
- Pierson, R., Kastelic, J., & Ginther, O. (1998). *Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses*. EUA: Theriogenology.
- Quintela, L., Díaz, C., Herradón, P., Peña, A., & Becerra, J. (2006). *Ecografía y reproducción en la vaca*. Universidad Santiago de Compostela - España: Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico.
- Quintelas, A. (2006). *Ecografía y Reproducción en bovinos*. España: Universidad Saniago de Compostela.
- Regueiro, M. (2008). *Anatomía del Aparato Reproductor de la Hembra*. Sao Paulo: Departamento de Producción Animal y Pasturas.
- Rippe, C. (2009). *El Ciclo Estral*. Dairy Cattle Reproduction Conference.
- Rosell, E. (2008). *Ultrasonografía y su uso en Producción Animal*. Cuba: Universidad de Granma.
- Saharrea, M. (1999). *Fisiología del Parto*. Mejoramiento Animal Reproducción Bo vinos.

- Senger, P. (2003). *Pathways to pregnancy and parturition* . Washington - EUA: Cadmus Professional Communications.
- Shearer, J. (2003). *Reproductive Anatomy and Physiology of Dairy Cattle* . EUA: Florida Cooperative.
- Stingfellow, D., & Siedel, S. (2000). *Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS)*. Illinois, USA. Obtenido de <http://www.iets.org>
- Tamayo, M. (2003). *La Ecografía como medio de diagnóstico y evaluación de los procesos reproductivos en el bovino* . San José - La Habana: Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Agraria de la Habana.