



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**INFORME DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A
LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO**

MECANISMO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE (FSH) VÍA EPIDURAL
COMO HERRAMIENTA PARA SIMPLIFICAR LOS PROTOCOLOS
DE SUPEROVULACIÓN EN VACAS DONANTES DE EMBRIONES**

AUTORES:

**JELLY DANIELA CARABAJO MENDIETA
FABIAN ANTONIO SEGOVIA GARCÍA**

TUTOR:

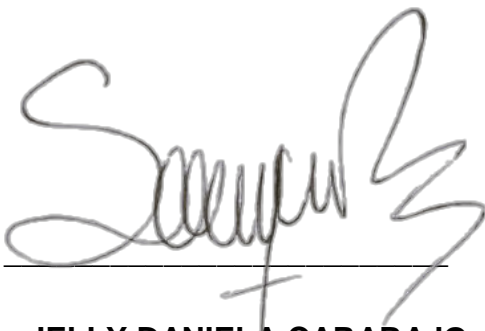
DR.C. JORGE IGNACIO MACÍAS ANDRADE

CALCETA, JULIO DE 2024

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

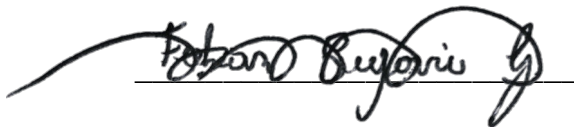
JELLY DANIELA CARABAJO MENDIETA con cédula de ciudadanía **2100855143** y **FABIAN ANTONIO SEGOVIA GARCÍA** con cédula de ciudadanía **1314061829**, declaramos bajo juramento que el Trabajo de Integración Curricular titulado: **HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE (FSH) VÍA EPIDURAL COMO HERRAMIENTA PARA SIMPLIFICAR LOS PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN EN VACAS DONANTES DE EMBRIONES** es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, concedemos a favor de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, conservando a nuestro favor todos los derechos patrimoniales de autor sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación.



**JELLY DANIELA CARABAJO
MENDIETA**

CC: 2100855143

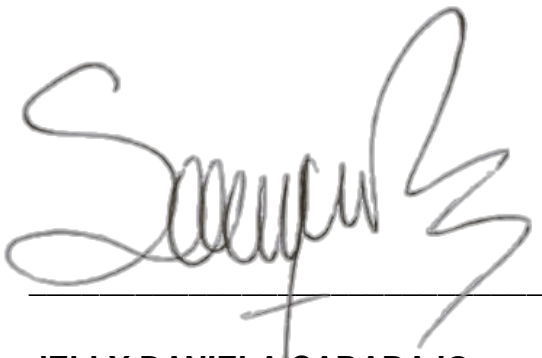


**FABIAN ANTONIO SEGOVIA
GARCÍA**

CC: 1314061829

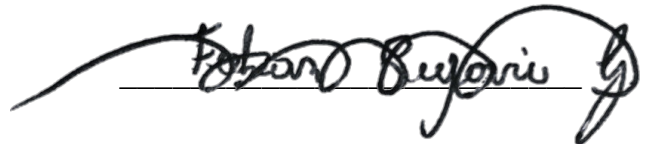
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

JELLY DANIELA CARABAJO MENDIETA con cédula de ciudadanía **2100855143** y **FABIAN ANTONIO SEGOVIA GARCÍA** con cédula de ciudadanía **1314061829**, autorizamos a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, la publicación en la biblioteca de la institución del Trabajo de Integración Curricular titulado: **HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE (FSH) VÍA EPIDURAL COMO HERRAMIENTA PARA SIMPLIFICAR LOS PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN EN VACAS DONANTES DE EMBRIONES**, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra exclusiva responsabilidad y total autoría.



**JELLY DANIELA CARABAJO
MENDIETA**

CC: 2100855143



**FABIAN ANTONIO SEGOVIA
GARCÍA**

CC: 1314061829

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

DR.C. JORGE IGNACIO MACÍAS ANDRADE, certifica haber tutelado el Trabajo de Integración Curricular titulado: **HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE (FSH) VÍA EPIDURAL COMO HERRAMIENTA PARA SIMPLIFICAR LOS PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN EN VACAS DONANTES DE EMBRIONES**, que ha sido desarrollado por **JELLY DANIELA CARABAJO MENDIETA Y FABIAN ANTONIO SEGOVIA GARCÍA**, previo a la obtención del título de **MÉDICO VETERINARIO**, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

DR.C. JORGE MACÍAS ANDRADE

CC: 0910715200

TUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes de Tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el Trabajo de Integración Curricular titulado: **HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE (FSH) VÍA EPIDURAL COMO HERRAMIENTA PARA SIMPLIFICAR LOS PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN EN VACAS DONANTES DE EMBRIONES**, que ha sido desarrollado por **JELLY DANIELA CARABAJO MENDIETA** y **FABIAN ANTONIO SEGOVIA GARCÍA**, previo a la obtención del título de **MÉDICO VETERINARIO**, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

**MVZ. GUSTAVO ADOLFO
CAMPOZANO MARCILLO, MG
CC: 1311508731
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

**DR. FERNANDO JAVIER
RINCÓN ACOSTA, PHD
CC: 0963870449
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

**M.V. EDWIN DARÍO
VELÁSQUEZ ZAMBRANO, MG.
CC:1313860304
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

AGRADECIMIENTO

Doy gracias a Dios por permitirme cumplir esta etapa académica, manteniéndome con salud, inteligencia y fuerza para desempeñar con las obligaciones y deberes como estudiante, logrando ser una Médica Veterinaria.

Además, quiero expresar mi gratitud a mis adorables padres Isabel Mendieta y Daniel Carabajo por su apoyo incondicional, confianza, sacrificio, comprensión y aliento a lo largo de este desafiante viaje académico. A mi bella hermana gemela Joselyn quien supo alentarme y motivarme en estos cinco años y medio recorriendo juntas este retador camino y a mi hermana Belén quien supo entregarme su apoyo a la distancia. Su amor y sustento fueron mi mayor motivación para seguir adelante en momentos de duda y dificultad. Al resto de familia y amigos que creyeron en mí siempre, por su inquebrantable apoyo emocional, fomentando mis deseos de progreso. A mi amigo y compañero de vida y de tesis Fabian Segovia por haberme entregado su amor, paciencia siendo mi soporte y aliento en la realización del trabajo de titulación.

Finalmente, a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

Jelly Daniela Carabajo Mendieta

AGRADECIMIENTO

Gracias Dios por permitirme cumplir esta meta tan esperada, agradezco a mis padres que siempre me han apoyado para ser un profesional de la República. A mis hermanos, familiares y amigos que me han motivado de una u otra manera a seguir con este objetivo ser un médico veterinario. A mi novia y compañera de tesis Jelly Carabajo por siempre haberme promovido responsabilidad e impulso en la realización de este trabajo de titulación.

Finalmente, a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

Fabian Antonio Segovia García

DEDICATORIA

Este trabajo, fruto de mi esfuerzo, perseverancia va dedicado con todo mi corazón en primer lugar a Dios quien fue y es mi guía principal en mis objetivos y bendiciones que recibí en este arduo proceso profesional.

A mis queridos padres y a mis hermanas, cuyo amor, sacrificio y apoyo incondicional han sido la fuente de mi fuerza y determinación en este camino académico. Su constante aliento y ejemplo de constancia me han guiado en cada paso, y esta investigación es el fruto de su dedicación y valores inculcados. Ustedes son quienes contribuyeron en mi crecimiento personal y profesional por lo tanto este logro es tanto suyo, como mío ¡Lo logramos!

Jelly Daniela Carabajo Mendieta

DEDICATORIA

Este trabajo de titulación se lo dedicó a Dios y a mis padres, en especial a mi padre que está en el cielo, quien sé que estará muy orgulloso y feliz por haber logrado la meta, sin él nada fuera posible y me siento contento de haber cumplido su voluntad.

Fabian Antonio Segovia García

CONTENIDO GENERAL

CARÁTULA.....	i
DECLARACIÓN DE AUDITORÍA.....	ii
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN	iii
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	v
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA	viii
CONTENIDO GENERAL.....	x
CONTENIDO DE CUADROS.....	xiii
CONTENIDO DE FIGURAS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1 PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	2
1.3 OBJETIVOS.....	3
1.3.1 OBJETIVO GENERAL.....	3
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
1.4 HIPÓTESIS.....	3
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA DEL BOVINO	4
2.2 DINÁMICA FOLICULAR.....	4
2.3 SUPEROVULACIÓN.....	5
2.4 PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN	6
2.5 VARIABILIDAD EN LA RESPUESTA SUPEROVULATORIA.....	7
2.6 SINCRONIZACIÓN DE LA ONDA FOLICULAR.....	8

2.7	HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE (FSH)	9
2.8	FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINÁMICA DE LA FSH VÍA EPIDURAL	9
2.9	COLECTA DE EMBRIONES	10
2.10	EVALUACIÓN Y SELECCIÓN EMBRIONARIA	11
2.11	ETAPAS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO.....	12
2.12	CALIDAD EMBRIONARIA.....	12
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO.....		15
3.1	UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	15
3.2	DURACIÓN.....	15
3.3	MÉTODOS Y TÉCNICAS.....	15
3.3.1	MÉTODOS	15
3.3.2	TÉCNICAS	16
3.4	FACTOR DE ESTUDIO.....	16
3.5	UNIDAD EXPERIMENTAL.....	16
3.6	VARIABLES A MEDIR	16
3.6.1	VARIABLE INDEPENDIENTE	16
3.6.2	VARIABLE DEPENDIENTE	16
3.7	MANEJO DEL EXPERIMENTO	17
3.7.1	SELECCIÓN DE ANIMALES	17
3.7.2	APLICACIÓN DEL PROTOCOLO CONVENCIONAL	17
3.7.3	APLICACIÓN DEL PROTOCOLO VÍA EPIDURAL	18
3.7.4	VALORACIÓN DE LA RESPUESTA SOV	19
3.7.5	LAVADO UTERINO DE LAS DONANTES.....	19
3.7.6	VALORACIÓN DE LOS EMBRIONES OBTENIDOS	20
3.8	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	20
3.9	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	20

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
4.1 CONTABILIZACIÓN DE FOLÍCULOS PREEVULATORIOS	21
4.2 CONTABILIZACIÓN DE CUERPOS LÚTEOS Y FOLÍCULOS ANOVULATORIOS.....	21
4.3 NÚMERO DE ESTRUCTURAS Y EMBRIONES TRANSFERIBLES ..	23
4.4 CALIDAD Y ESTADÍO EMBRIONARIO	24
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	26
5.1 CONCLUSIONES	26
5.2 RECOMENDACIONES	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
ANEXOS	37

CONTENIDO DE CUADROS

Tabla 2.1 Esquema de protocolos convencionales de superovulación.	7
Tabla 2.2 Edad y características del embrión.	12
Tabla 3.1 Condiciones meteorológicas del sitio de estudio.	15
Tabla 4.1 Valor medio del recuento de los folículos preovulatorios. T Student (5%)	21
Tabla 4.2 Número medio de cuerpos lúteos observados previo al lavado de embriones, en los dos grupos (convencional y epidural). Prueba T Student (5%)	22
Tabla 4.3 Número promedio de folículos anovulatorios, observados previo al lavado de embriones en los dos grupos (convencional y epidural). Prueba T Student (5%)	23
Tabla 4.4 Número promedio de estructuras, embriones transferibles recuperadas luego del lavado en los dos grupos (convencional y epidural). Prueba T Student (5%)	23
Tabla 4.5 Número promedio de embriones obtenidos según su estadio y calidad embrionaria presentes en los dos grupos. Prueba T Student (5%)	24

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 2.1 Blastocisto de calidad excelente.....	13
Figura 2.2 Mórula de calidad regular	13
Figura 2.3 Mórula de calidad mala.	14
Figura 2.4 Embrión congelado	14
Figura 3.1 Protocolo de superovulación (SOV) convencional	18
Figura 3.2 Protocolo de superovulación (SOV) vía epidural	18

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el impacto de la administración combinada de FSH vía epidural e intramuscular con el propósito de optimizar los protocolos de superovulación en vacas mestizas donantes de embriones. Para su ejecución se determinó un diseño experimental donde se seleccionó 8 vacas mestizas *Bos Indicus* con un peso promedio de 400-450 kg, condición corporal de 2.5 sin complicaciones reproductivas. Se utilizaron dos tratamientos comparativos: T1 (n=4; convencional) recibieron 12 ml de FSH vía intramuscular en 8 dosis decrecientes, en la mañana y tarde, en T2 (n=4; vía epidural) se administró 10 ml de FSH en una sola dosis vía epidural en el día 4 y un refuerzo intramuscular (2ml) en el día 7. Se valoró la respuesta al proceso de superovulación, número de folículos preovulatorios (T1=7.25 ± 1.91 vs T2=8.75 ± 3.11), cuerpo lúteo (T1=5.38 ± 1.60 vs T2=4.13 ± 0.99) y estructuras embrionarias (T1=5.25 ± 3.69 vs T2=1 ± 1.41) fue similar para ambos grupos (p>0.05). No obstante, no se evidenció un aumento significativo (p>0.05) en el número de estructuras obtenidas, pero sí en su calidad; además, el porcentaje de embriones en los diferentes estadios de desarrollo no difirió entre grupos (p>0.05). Se concluye que, la hormona folículo estimulante (FSH) administrada por vía epidural más un refuerzo intramuscular, produce una respuesta similar al protocolo convencional, sin embargo, el número de embriones transferibles es menor.

PALABRAS CLAVE

Administración epidural, FSH, Protocolos de superovulación, *Bos Indicus*.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the impact of the combined administration of FSH via epidural and intramuscular routes with the purpose of optimizing superovulation protocols in crossbred embryo donor cows. For its execution, an experimental design was determined where 8 *Bos Indicus* crossbred cows were selected with an average weight of 400-450 kg, body condition of 2.5 without reproductive complications. Two comparative treatments were used: T1 (n=4; conventional) received 12 ml of FSH intramuscularly in 8 decreasing doses, in the morning and afternoon, in T2 (n=4; epidural route) 10 ml of FSH was administered in one single dose epidurally on day 4 and an intramuscular booster (2ml) on day 7. The response to the superovulation process, number of preovulatory follicles (T1=7.25 ± 1.91 vs T2=8.75 ± 3.11), corpus luteum (T1=5.38 ± 1.60 vs T2=4.13 ± 0.99) and embryonic structures (T1=5.25 ± 3.69 vs T2=1 ± 1.41) were similar for both groups (p>0.05). However, there was no significant increase (p>0.05) in the number of structures obtained, but rather in their quality; furthermore, the percentage of embryos in different stages of development did not differ between groups (p>0.05). It is concluded that follicle stimulating hormone (FSH) administered epidurally plus an intramuscular booster produces a response similar to the conventional protocol, however, the number of transferable embryos is lower

KEYWORDS

Epidural administration, FSH, Superovulation protocols, *Bos Indicus*.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1 PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

La biotecnología de Ovulación Múltiple y Transferencia de Embriones (MOET) ha sido una herramienta fundamental en la reproducción animal durante décadas, facilitando un aumento en el índice reproductivo y un mejoramiento genético notable en un período más corto (Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura [INTAGRI], 2018). Su función consiste en obtener mayor cantidad de ovocitos por cada donadora seleccionada (superovulación), e implantarlos en las receptoras. A pesar de estos avances, las tasas de superovulación y preñez no han experimentado mejoras significativas. Se observa una variabilidad considerable en el número de ovulaciones, embriones deficientes, además ciertas donadoras no responden al tratamiento consecuentemente por los factores intrínsecos y extrínsecos (Tríbulo, 2015).

Mogollón y Burla (2013) argumentan que el proceso multiovulatorio convencional para TE en el ganado bovino consiste en ocho aplicaciones de hormona folículo estimulante (FSH) por vía intramuscular para inducir el crecimiento folicular, con intervalos de 12 horas durante cuatro días consecutivos, debido a la corta vida media de la hormona FSH que oscila entre de 5 y 12 horas. Este procedimiento conlleva repercusiones adversas como el estrés, derivadas del confinamiento y manipulación excesiva de los animales. Esto impacta tanto en la calidad como en la cantidad de óvulos a ser obtenidos.

Por otro lado, Cañón y Hernández (2020) señalan que la implementación de las biotecnologías como la sincronización y superovulación se han visto limitadas por los altos costos que estas conllevan, debido a la variedad de gastos en el procedimiento, entre ellos, el costo de las hormonas, la mano de obra involucrada por el operador técnico, selección y cuidado de las donadoras y receptoras. Teniendo en cuenta que, “el retorno de la inversión no es cien por ciento garantizada ya que muchas veces no se obtienen ni los resultados ni la rentabilidad esperados” lo cual se transforma en un factor limitante de la técnica e implica un análisis de costo/beneficio (Bolívar y Maldonado, 2008).

Por lo anteriormente expuesto surge la siguiente interrogante: ¿La aplicación de una dosis de FSH vía epidural con una dosis vía intramuscular favorecerá el incremento de la respuesta superovulatoria en vacas donantes mestizas?

1.2 JUSTIFICACIÓN

Según Morales *et al.* (2019) el método convencional de superovulación implica múltiples aplicaciones de la hormona folículo estimulante (FSH) por vía intramuscular durante 4 días seguidos para prolongar su efecto. Como alternativa para reducir el estrés consecuente, se propone minimizar las aplicaciones de FSH sin afectar la respuesta de las donantes a la superovulación o la producción de embriones (Araujo y Cordero, 2021).

El nuevo enfoque de administrar el tratamiento al paciente que ha despertado una gran perspectiva, es la epidural (Araujo y Cordero, 2021). Hay informes limitados de una única administración de FSH epidural para la respuesta multiovulatoria, se especula que el tejido adiposo epidural favorece el movimiento lento de FSH hacia la circulación periférica. Casati (2000) agrega que, la absorción de fármacos (analgésicos y anestésicos) administrados en el espacio epidural se ve influenciada por las membranas que rodean la médula y su solubilidad en lípidos. Dado que la FSH es hidrosoluble, su absorción es más lenta, lo que prolonga su efecto (Robbe *et al.*, 2002).

En este contexto, se ha evidenciado un estudio realizado por Taşdemir *et al.* (2012) quienes concluyeron que la combinación de aplicación epidural e inyección intramuscular de FSH podría ser comparativamente efectiva con los protocolos tradicionales, aunque la eficiencia en el número de embriones transferidos no fue óptima. Por otro lado, una publicación más reciente demostró que esta aplicación podría estimular el desarrollo folicular y la producción de embriones tanto in vivo como in vitro en vacas negras japonesas (Sakaguchi *et al.*, 2018).

Esta investigación es la primera que se realiza en *Bos indicus* en el trópico bajo ecuatoriano. Su aplicación puede demostrar los beneficios de obtener una mayor cantidad de embriones transferibles de alta calidad a un costo relativamente módico

al tiempo que se asegura el bienestar animal al disminuir las horas de confinamiento y el estrés.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el impacto de la administración combinada de FSH vía epidural e intramuscular con el propósito de optimizar los protocolos de superovulación en vacas mestizas donantes de embriones.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Valorar el efecto de la aplicación de FSH convencional y epidural con una dosis intramuscular con relación al número de folículos estimulados.

Valorar el efecto de la aplicación de FSH convencional y epidural con una dosis intramuscular sobre la respuesta multi ovulatoria.

Determinar el efecto de la aplicación de FSH convencional y epidural con una dosis intramuscular en relación con la cantidad de embriones

Estimar el efecto de la aplicación de FSH convencional y epidural con una dosis intramuscular en la calidad embrionaria.

1.4 HIPÓTESIS

La combinación de una dosis de FSH administrada vía epidural con una dosis intramuscular simplifica el protocolo de superovulación, y preserva la cantidad y calidad de los embriones de vacas mestizas donantes en comparación con los protocolos tradicionales.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA DEL BOVINO

La fisiología reproductiva del bovino está regulada por la comunicación hormonal regida por el eje hipotálamo, hipófisis, ovario y útero (Pinel y Pérez, 2017). El hipotálamo se ubica en la base del cerebro, donde las neuronas producen la hormona que libera gonadotropina (GnRH) (Hernández, 2016). En la eminencia media, se distribuye a través de los capilares del sistema porta hipofisario a las células de la adenohipófisis, cuya función es estimular la secreción de las hormonas hipofisarias FSH y LH. La hipófisis está formada por una parte adenohipófisis y neurohipófisis. La adenohipófisis genera diversas hormonas, entre las cuales FSH y LH desempeñan una función fundamental en el ciclo estral (Bavera, 2005).

La FSH inicia el proceso de producción de esteroides en los ovarios, así como el crecimiento y la maduración de los folículos, mientras que la LH participa también en la producción de esteroides ováricos, pero se centra en la ovulación, forma y el mantiene del cuerpo lúteo (Crudeli, 2011). Además, los ovarios tienen una doble función: actúan como glándulas exocrinas al liberar óvulos y como glándulas endocrinas al secretar hormonas. Entre las hormonas producidas por los ovarios se encuentran los estrógenos, la progesterona y la inhibina (Nebel y DeJarnette, 2011)

El útero genera prostaglandina F2a (PGF2a), la cual juega un papel en la regulación neuroendocrina del ciclo estral al tener un efecto luteolítico. Además, también interviene en los procesos de ovulación y parto (Roth, 2020).

2.2 DINÁMICA FOLICULAR

El folículo ovárico en los bovinos consta de un ovocito que atraviesa una serie de procesos biológicos, como la ovulación, la fertilización y la formación del embrión. Este ovocito está rodeado por células de la granulosa y la teca, las cuales generan señales y hormonas para facilitar el desarrollo del ovocito (Khan *et al.*, 2020).

A lo largo del desarrollo del folículo, las células de la granulosa se multiplican, emiten hormonas y crean un entorno microscópico crucial para el crecimiento del folículo (Domínguez *et al.*, 2020). La multiplicación y especialización de las células de la granulosa son fundamentales para el adecuado crecimiento del folículo, el desarrollo de los ovocitos, la ovulación y la formación del cuerpo lúteo

Tanto los factores de crecimiento epidérmico (EGF) como la progesterona (P4) se consideran opciones prometedoras para potenciar la supervivencia y el desarrollo de los folículos en un entorno de cultivo *in vitro* (Berisha *et al.*, 2000). En el ganado, la incorporación de EGF incrementa la proliferación de las células del cúmulo y mejora la eficacia en términos de maduración y fertilización de los óvulos (Paulino *et al.*, 2020). La progesterona (P4) tiene una función crucial en el control de la maduración de los ovocitos bovinos, tanto en condiciones naturales como en cultivos *in vitro*, mediante la activación de receptores nucleares y de membrana específicos para la P4 (Luo *et al.*, 2020; Hernández, 2016).

Por otra parte, Warma y Ndiaye (2020) señalan que la FSH desempeña una función de control en la fase inicial de la foliculogénesis preantral, y además influye en la activación de genes clave relacionados con el metabolismo energético y la señalización MAPK, lo que podría estar vinculado a los efectos proliferativos de la FSH en los folículos preantrales (Martínez, 2009).

2.3 SUPEROVULACIÓN

En el ganado bovino, la técnica de superovulación (SOV) se emplea extensamente con el propósito de estimular el desarrollo y la maduración de un mayor número de folículos antrales pequeños. Esto se logra mediante la administración de gonadotropinas, lo que induce múltiples ovulaciones y aumenta la cantidad de embriones transferibles con una alta tasa de éxito en la gestación (Chacón *et al.*, 2020).

La mayor parte de los protocolos de tratamiento de la superovulación utilizados en la actualidad se fundamentan en el empleo de extractos de hipófisis que contienen hormona estimulante del folículo (FSH), los cuales suelen

administrarse dos veces al día durante cuatro días con dosis decrecientes (Sanderson y Martínez, 2020).

Diversas tecnologías reproductivas se emplean para conservar, ampliar y mejorar el ganado. La ovulación múltiple y la transferencia de embriones (MOET) reducen el tiempo entre generaciones y permiten aprovechar al máximo el potencial genético de las hembras y toros de calidad superior (Rosales *et al.*, 2018).

La técnica de Transferencia de Embriones Múltiples (MOET) implica estimular los ovarios de la hembra para que produzcan una mayor cantidad de óvulos. Posteriormente, después de fertilizar estos óvulos, ya sea de forma natural o artificial, se recuperan los embriones resultantes y se transfieren a hembras receptoras (Parra *et al.*, 2018). No obstante, esta metodología ha sido poco utilizada debido a la escasez de información sobre los procedimientos reproductivos necesarios para aplicar eficazmente esta tecnología en hembras.

2.4 PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN

Los métodos de superovulación muestran una amplia variación, influenciados por la fuente de FSH, el tipo de diluyente empleado, la dosis y el momento de las inyecciones de FSH, así como el uso de prostaglandinas en distintos momentos, además, dispositivos internos de liberación controlada de progesterona, hormona liberadora de gonadotropina y otros métodos para regular el desarrollo folicular y la ovulación (Mikkola *et al.*, 2020). Los elementos asociados a los animales que pueden afectar la efectividad de la superovulación abarcan la raza bovina, la edad, el estado nutricional, el nivel genético, el estado de lactancia, el historial reproductivo y la estación del año (Cremonesi *et al.*, 2020).

Los protocolos convencionales siguen la fisiología del ciclo estral, comenzando el tratamiento al inicio de una onda folicular, usualmente entre los días 8 y 11 del ciclo (Jiménez, 2009). A pesar de varios intentos con diferentes protocolos hormonales para mejorar los resultados de la superovulación y reducir la variabilidad, los avances han sido limitados (Sudano *et al.*, 2011). En los protocolos de superovulación en vacas, es habitual emplear FSH para estimular el crecimiento folicular, dado que su vida media en estos animales es

de aproximadamente 5 horas. En los protocolos convencionales, la FSH se administra dos veces al día, con un intervalo de 12 horas, durante un período de 4-5 días por vía intramuscular (Mogollón y Burla 2013).

Los protocolos de sincronización de tiempo fijo están diseñados para coordinar la actividad folicular de varias donantes, iniciando el tratamiento estimulante sin importar la fase específica del ciclo estral en la que se encuentren. Estos protocolos emplean una combinación de progesterona y estrógenos, o de GnRH, para reiniciar la actividad folicular. Con cualquiera de estos tratamientos, se logra reiniciar la actividad folicular aproximadamente a los 4 días, momento en el cual se considera apropiado iniciar el tratamiento con FSH (Sanderson y Martínez, 2020; Jiménez, 2009)

Tabla 2.1 Esquema de protocolos convencionales de superovulación.

Esquema del protocolo multiovulatorio convencional
Día 0: implante intravaginal (IV) de 1,38 g de progesterona (P4; CIDR®, Zoetis, México), 2 mg de benzoato de estradiol (BE; Gonadiol®, Syntex, Argentina) IM; y 100 mg de P4 (Gestavec® Vecol SA, Colombia) IM.
Día 4: 40 mg de Folltropin® (Bioniche, Canadá) IM dos veces al día (6 am y 6 pm).
Día 5: 30 mg de FSH-p/IM dos veces al día (6 am y 6 pm).
Día 6: 20 mg de FSH-p y 0,5 mg de D-cloprostenol (Estrumate® Intervet Schering-Plough, NJ, USA) IM dos veces al día (6 am y 6 pm); se retira el IV a las 6 pm.
Día 7: 10 mg de FSH-p/IM dos veces al día (6 am y 6 pm).
Día 8: inseminación artificial (IA) a las 6 am y 6 pm, Gonadorelina (GnRH; Fertagyl®, Intervet Schering-Plough, NJ, USA) 250 ug/IM a las 6 am.
Día 15: Colección de embriones

Fuente. Soria y Guevara (2017)

2.5 VARIABILIDAD EN LA RESPUESTA SUPEROVULATORIA

La consideración de los factores que influyen en la calidad y producción de embriones en vacas sometidas a superovulación es de suma importancia para diseñar un programa de transferencia de embriones efectivo (Mapletoft, 2018). Los factores internos comprenden aspectos genéticos, como la raza y la variabilidad individual en la sensibilidad a la gonadotropina. Los factores fisiológicos abarcan la edad, las condiciones ováricas, como la dominancia folicular, y la población de folículos al momento de la superovulación. El estado nutricional hace referencia a la cantidad y calidad de los nutrientes, ya sea en

déficit o en exceso. Por último, las condiciones sanitarias involucran patologías en órganos reproductivos como los ovarios, el útero y el oviducto (Fátima *et al.*, 2018).

Los factores externos abarcan la utilización de diversas formulaciones comerciales de FSH, tanto las derivadas de la hipófisis como las recombinantes, que pueden contener distintas cantidades de LH, eCG, HMG e inhibidores. También se considera la dosificación, la vía de administración, la época del año y las prácticas de manejo en la explotación ganadera (Silva *et al.*, 2018). Tanto la hiperestimulación de los ovarios, a través de la administración de hormonas exógenas, como el envejecimiento fisiológico se asocian con un menor éxito reproductivo, lo que incluye menores tasas de implantación, mayor incidencia de mortalidad postimplantación (Marshall y Rivera, 2018).

2.6 SINCRONIZACIÓN DE LA ONDA FOLICULAR

La sincronización emergente de la onda folicular puede lograrse mediante ablación folicular o mediante tratamientos farmacológicos con hormonas, obteniendo resultados semejantes (Santiago, 2022). La falta de un folículo dominante al comienzo del tratamiento hormonal conduce a una superovulación más pronunciada, así como a una mayor cantidad de ovocitos disponibles para la fertilización *in vitro* (Colazo *et al.*, 2017). La administración de progesterona exógena inhibe el crecimiento del folículo dominante cuando se administra durante la fase de crecimiento, lo que provoca la aparición anticipada de una onda folicular (Contreras, 2018).

La sincronización de celo en bovinos es un evento importante para mejorar la eficiencia reproductiva en los sistemas ganaderos, en particular los dependientes de la inseminación artificial. Al avanzar en el conocimiento de la fisiología de la hembra bovina, el uso de hormonas exógenas (progesterona, prostaglandina F₂α, hormona liberadora de gonadotropinas, gonadotropina coriónica equina, estrógenos, entre otras) ha permitido gobernar el ciclo estral, desarrollado protocolos de sincronización de celo para inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) (Obando, 2020). Para Demetrio *et al.* (2020), la coordinación de las ondas

foliculares y la estimulación mediante FSH son cruciales para mejorar la calidad de los ovocitos y, por ende, incrementar la producción de embriones.

2.7 HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE (FSH)

En los mamíferos los folículos antrales se reclutan en forma de ondas en respuesta a un incremento de la hormona estimulante del folículo FSH luego de la previa ovulación o la regresión de un folículo dominante (Landry y Sirard, 2018). El desarrollo de los folículos reclutados está regulado por la FSH hasta que se seleccione el folículo dominante, lo cual ocurre cuando los folículos alcanzan una dimensión cercana a los 8,5 mm (Bizarro *et al.*, 2018). La estimulación ovárica aprovecha la capacidad de todos los folículos subordinados para competir por convertirse en dominantes. La hormona folículo-estimulante (FSH) es comúnmente empleada en la superovulación del ganado bovino.

En el ganado bovino, si los niveles de progesterona permanecen elevados, los pulsos de LH no se incrementarán, lo que resultará en la no ovulación y eventual atresia del folículo dominante. Esto a su vez dará lugar a una nueva ola de folículos antrales conforme la FSH aumente (Bavera, 2005). Administrando FSH externa en el momento adecuado después del reclutamiento y durante algunos días, los folículos subordinados pueden ser rescatados de la atresia y pueden transformarse en folículos subdominantes con capacidad para ovular (Mapletoft, 2018). En la fase de meseta justo antes del pico de LH se puede inducir artificialmente retirando la FSH durante unos días después de la estimulación ovárica, lo que resulta un rendimiento del embrión de casi el 100% en bovinos (Cremonesi *et al.*, 2020).

2.8 FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINÁMICA DE LA FSH VÍA EPIDURAL

Según Casati (2003) el propósito de administrar medicamentos en el espacio epidural es proporcionar un efecto terapéutico localizado y prolongado. Cuando se administran fármacos analgésicos por vía epidural, es crucial considerar sus propiedades físicoquímicas, especialmente su solubilidad (liposoluble o hidrosoluble). Esta solubilidad influye significativamente en su farmacocinética,

afectando su absorción y distribución en la sangre y el líquido cefalorraquídeo (LCR) González, 2007).

Cuando se inyecta un fármaco en el espacio epidural, debe atravesar las meninges para alcanzar el tejido nervioso. Los fármacos liposolubles atraviesan estas membranas más rápidamente que los hidrosolubles, lo que les permite llegar a la médula espinal y tener un inicio de acción más rápido. Además, los fármacos liposolubles se fijan en mayor proporción al tejido nervioso, concentrando su efecto en el área de inyección. Por otro lado, los fármacos hidrosolubles, con un inicio de acción más lento, se fijan menos al tejido nervioso y se distribuyen a diferentes áreas a través del líquido cefalorraquídeo (Casati, 2003; Rioja *et al.*, 2013).

La FSH administrada por vía epidural se absorbe gradualmente, lo que promueve el desarrollo folicular. Este enfoque se convierte en una alternativa sencilla para la superovulación en el ganado (Sakaguchi *et al.*, 2018). La aplicación epidural de FSH mejora el desarrollo embrionario a continuación de OPU-IVF, los veterinarios con experiencia en técnicas de anestesia local pueden realizar esta administración epidural para la superovulación en vacas (Chumchai *et al.*, 2021). El área subcutánea detrás del hombro que contiene la almohadilla de tejido adiposo, representa el sitio ideal para la administración única de FSH, dado que la presencia de grasa permite una liberación gradual del medicamento. Otro estudio propuesto por Satilmis *et al.* (2021) en vacas Anatolia oriental, la administración de FSH vía epidural no proporciona suficiente folículo y desarrollo de ovocitos.

2.9 COLECTA DE EMBRIONES

Los embriones se recolectan mediante laparotomía que es la incisión de aproximadamente 15 cm en la línea media, por delante de la glándula mamaria o con menos frecuencia, mediante una incisión en el flanco (Araujo y Cordero, 2021). Para lo cual es necesario especiales y costosas instalaciones quirúrgicas tanto para las donantes y receptoras que se sometían a cirugía aséptica bajo anestesia general con el riesgo de que aproximadamente el 10% se vuelvan infértiles o sub fértiles por la cirugía (Villaseñor *et al.*, 2017). De tal manera, que

la manipulación quirúrgica del útero y ovarios a lesiones que predisponen a la formación de fibrina y adherencias.

En la colección de embriones las donadoras se colocan en una trampa inmovilizadora en donde se lava y se desinfecta el área perivulvar y coccígea dorsal, aplicando entre 5 a 8 ml de lidocaína al 2% por vía epidural. Luego, se inserta una sonda Foley de dos vías por vía vaginal, fijándola en el cuerpo del útero, para realizar las infusiones o colecciones uterinas. Posterior a ello, se localizan los folículos y se activa la bomba de aspiración folicular para la punción de cada folículo y aspiración de los ovocitos. Se aspiran los folículos de mayor tamaño de 5mm de diámetro en adelante para luego seleccionarlos. Por lo general, una vaca donadora puede ofrecer 25 ovocitos que darían entre 6 a 7 embriones (Villaseñor *et al.*, 2017).

2.10 EVALUACIÓN Y SELECCIÓN EMBRIONARIA

La evaluación de embriones se realiza de forma habitual después de su extracción y antes de su transferencia o congelación para almacenamiento. Después de finalizar el lavado, se deja que el líquido de recogida sedimente durante aproximadamente diez minutos, permitiendo que los embriones se depositen en el fondo del frasco debido a su propio peso. Transcurrido este tiempo, se extrae el líquido del fondo del frasco y se coloca en una placa Petri para buscar los embriones utilizando una lupa binocular con aumentos de 20/40 (Gonsalvez y Vidal, 2006)

Una vez que se localiza un embrión, este se traslada a una pequeña placa Petri que contiene PBS y suero bovino, manteniéndose a 37°C para evaluar su calidad. A continuación, se observan y evalúan las siguientes características de cada embrión (Gonsalvez y Vidal, 2006):

- Fase de desarrollo (edad del embrión).
- Si está entero o ha perdido alguna célula.
- Forma (la mejor es la esférica).
- Masa celular homogénea y uniformemente repartida.

Los criterios de evaluación morfológica y calidad incluyen aspectos como la forma, simetría de los blastómeros, apariencia, tonalidad, uniformidad de la membrana, proporción entre el embrión y el espacio perivitelino, integridad de la zona pelúcida, presencia de detritus celulares y compactación de los blastómeros entre sí (Bo y Mapletoft, 2013; Palma, 2001). Estas estructuras se clasifican según su etapa de desarrollo y su calidad mediante códigos estandarizados establecidos por la IETS.

2.11 ETAPAS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO

La etapa de desarrollo embrionario es determinada de acuerdo a los códigos numéricos establecidos por la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS). La edad del embrión se establece a partir del día del estro (d0). No obstante, el código de la etapa de desarrollo es numérico, en un rango de “1” (un ovocito fertilizado o embrión de 1-célula) a “9” (blastocisto expandido eclosionado) (Fernández, 2014). En la Tabla 2 se puede observar el desarrollo del embrión para su clasificación:

Tabla 2.2 Edad y características del embrión.

Día	Característica
1	Corresponde a la ovulación
2	El cigoto se divide en 2 células ovaes
3	Embrión de 4 células
4	8 células
5	16 células y continúa su desarrollo a 32 blastómeros - mórula temprana
5-6	32 a 64 blastómeros aprox. Mórula compacta (Mc)
7	100 a 200 células, formación de una cavidad: blastocelo. Blastocisto temprano (Bt)
7-8	100 – 200 células. Blastocisto (B)
7-8	Más de 200 células, ruptura de la zona pelúcida. Blastocisto expandido (Be)
8-9	200 – 800 células. Blastocisto protruido (Bp)

Adaptado de. Palma (2001).

2.12 CALIDAD EMBRIONARIA

La evaluación de la morfología y calidad del embrión se fundamenta en aspectos tales como la forma, la simetría de los blastómeros, la apariencia, la tonalidad, la uniformidad de la membrana, la proporción entre el embrión y el espacio perivitelino, la integridad de la zona pelúcida, la presencia de detritus celulares y la compactación de los blastómeros entre sí (Palma, 2001). El código de calidad

del embrión es también numérico y se basa en la integridad morfológica de los embriones. Los códigos de calidad de los embriones oscilan entre 1 y 4. (Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones, 2011):

Código 1: Excelente. La masa embrionaria debe ser simétrica y esférica, con blastómeros uniformes en tamaño, color y densidad. Este embrión debe corresponder a la etapa de desarrollo esperada. Las irregularidades deben ser mínimas, y al menos el 85% del material celular debe formar una masa embrionaria íntegra y viable. Este criterio se basa en el porcentaje de células embrionarias presentes en el material expulsado en el espacio perivitelino. La zona pelúcida debe ser lisa, sin superficies cóncavas o planas que puedan causar la adhesión del embrión a una placa de Petri o a una pajuela.

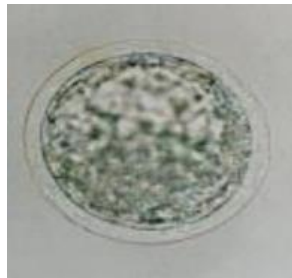


Figura 2.1 Blastocisto de calidad excelente.

Fuente. (Araujo y Cordero, 2021).

Código 2: Bueno. Presenta irregularidades moderadas en la forma general de la masa embrionaria o en el tamaño, color y densidad de las células individuales. Al menos el 50% del material celular debe constituir una masa embrionaria íntegra y viable.

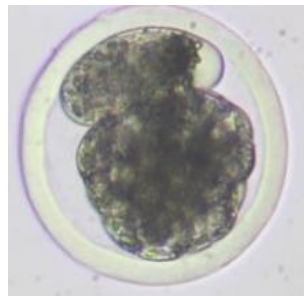


Figura 2.2 Mórula de calidad regular

Fuente. (Araujo y Cordero, 2021)

Código 3: Malo. Existen irregularidades significativas en la forma general de la masa embrionaria, así como en el tamaño, color y densidad de las células individuales. Al menos el 25% del material celular debe constituir una masa embrionaria íntegra y viable.

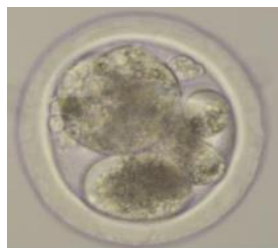


Figura 2.3. Mórula de calidad mala.

Fuente. (Araujo y Cordero, 2021)

Código 4: Muerto o Deteriorado. Embriones, ovocitos o embriones de 1 célula deteriorados: no válidos

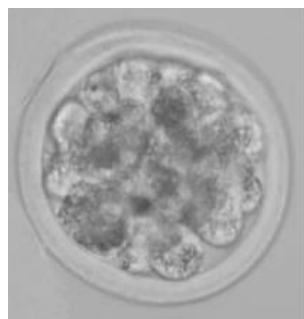


Figura 2.4 Embrión congelado

Fuente. (Araujo y Cordero, 2021)

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1 UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El trabajo de titulación se realizó en la Unidad de Docencia de Investigación y Vinculación de Hato Bovino de la ESPAM MFL, ubicada en el sitio El Limón del cantón Bolívar provincia de Manabí, bajo las siguientes coordenadas geográficas, 00°49'23" latitud sur; 80°11'01" latitud oeste y una altitud de 15 m.s.n.m.

A continuación, se detallan las características climáticas en la tabla 3 del lugar de estudio:

Tabla 3.1 Condiciones meteorológicas del sitio de estudio.

Variables Climáticas	Valor
Pluviosidad	1346 mm/año
Temperatura Media Anual	25.5 °C
Humedad Relativa Anual	84%
Heliofanía	1834.5 luz/año
Vientos	2.5 m/s

Fuente. Estación Meteorológica de la ESPAM-MFL (2019)

3.2 DURACIÓN

El trabajo de campo tuvo una duración de 5 meses. Durante los primeros 2 meses se realizó el proceso de selección, preparación y manejo de las vacas donantes que incluyó la valoración de condiciones sanitarias óptimas y verificación de ciclos estrales, al siguiente mes se llevó a cabo los protocolos de superovulación, posterior a ello 2 meses para redacción, tabulación de datos y presentación de resultados al tribunal de tesis.

3.3 MÉTODOS Y TÉCNICAS

3.3.1 MÉTODOS

Para la elaboración del proyecto se utilizaron métodos que permitieron conseguir un desarrollo apropiado de los objetivos. Los métodos que se emplearon para la resolución de la problemática planteada fue el método analítico descriptivo que, permitió describir y descomponer los elementos relevantes del estudio, posterior

a este, se apoyó del método hipotético deductivo que aprobó tener conclusiones específicas desde nociones generales para la obtención de los parámetros reproductivos en estudio (cantidad de folículos pre ovulatorios, cuerpos lúteos, embriones recolectados).

3.3.2 TÉCNICAS

La técnica que se utilizó para la recolección de datos durante la investigación fue la observación directa de las principales características que intervinieron en el proceso y los parámetros reproductivos de las vacas mestizas *Bos indicus* en relación con los 2 tratamientos, que involucró la técnica de medición numérica de la cantidad de folículos pre ovulatorios generados, cuerpos lúteos, embriones recolectados de cada vaca mestiza, lo cual permitió interpretar y analizar los resultados obtenidos de la investigación y cuantificación de las variables mencionadas.

3.4 FACTOR DE ESTUDIO

FSH administrada por vía Epidural.

3.5 UNIDAD EXPERIMENTAL

La unidad experimental en esta investigación se precisó con una unidad de tamaño experimental (T.U.E). Se seleccionaron 8 vacas mestizas *Bos Indicus* con peso promedio de 400 a 450 kg, condición corporal de 2.5 a 3 en la escala de 1 a 5, con una edad media de 2 a 5 años, multíparas, producción láctea diaria promedio de 8 a 10 litros, cíclicas, sin complicaciones reproductivas, con un mínimo de 60 días puerperio.

3.6 VARIABLES A MEDIR

3.6.1 VARIABLE INDEPENDIENTE

Hormona folículo estimulante (FSH) vía epidural.

3.6.2 VARIABLE DEPENDIENTE

Número de folículos pre ovulatorios

Número de cuerpos lúteos

Cantidad embriones

Calidad de embriones

Estadío de desarrollo embrionario

3.7 MANEJO DEL EXPERIMENTO

3.7.1 SELECCIÓN DE ANIMALES

En primera instancia, se seleccionaron 8 vacas, donde se analizaron requerimientos fisiológicos reproductivos adecuados para la investigación, tales como: Condición Corporal (CC) óptima, aquellas vacas que se encontraron en un intervalo de 2,5 a 3 en escala de 1 a 5, determinación que se hizo mediante observación; rango de edad media de 2 a 5 años, multíparas, con un peso entre 400 a 450 Kg (UGG) aproximadamente y vacas totalmente cíclicas. De igual manera, animales que no presenten patologías reproductivas confirmado mediante la observación objetiva general y la ultrasonografía transrectal.

3.7.2 APLICACIÓN DEL PROTOCOLO CONVENCIONAL

El protocolo de superovulación (SOV) convencional (G1) recibió en el día 0 (6h00) un dispositivo intravaginal de liberación lenta de progesterona (PLUSELAR 1g®) + 2 ml de Benzoato de estradiol (BENZOATO DE ESTRADIOL CALIER®) y 50 mg(1ml) de progesterona inyectable (PROLUTEN® LIVISTO) vía intramuscular. A partir del día cuatro (6h00) se aplicó 12 ml de FSH (PLUSET® Calier, Ecuador) vía intramuscular en 8 dosis decrecientes en intervalos de 12 horas. A partir del día 4 (06h00 y 18:00 = 2,5 ml); día 5 (06h00 y 18h00= 2 ml); día 6 (06h00 y 18h00= 1 ml); día 7 (06:00 y 18h00= 0,5 ml). Adicionalmente, en el día 6 a las 18h00 y el día 7 a las 06h00 se aplicó 2 ml prostaglandina (VETEGLAN® Calier, Ecuador) + retiro del dispositivo intravaginal de progesterona. En el octavo día se observó celo en la jornada vespertina, además, se administró 2,5 ml de GnRH (VETERELIN® Calier, Ecuador). Al día 9 se inseminó a las 06:00 am y 18H00 pm (Figura 15), el lavado fue realizado el día 15 del protocolo.

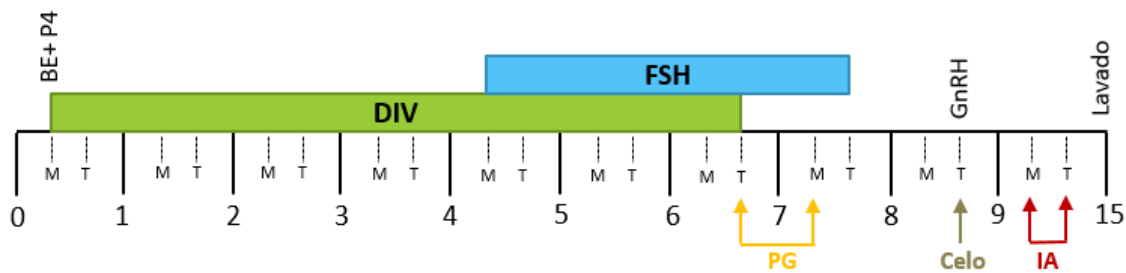


Figura 3.1. Protocolo de superovulación (SOV) convencional

3.7.3 APLICACIÓN DEL PROTOCOLO VÍA EPIDURAL

Para los animales que recibieron el protocolo alternativo de SOV (G2) se les aplicó en el día 0 (6h00) un dispositivo intravaginal de liberación lenta de progesterona (PLUSELAR 1g®) + 2 mg (2ml) de Benzoato de estradiol (BENZOATO DE ESTRADIOL CALIER®) y 50 mg (1ml) de progesterona inyectable (PROLUTEN® LIVISTO) vía intramuscular. En la mañana del cuarto día (6h00) las donadoras recibieron una dosis de FSH 10 ml (600 UI PLUSET® Calier, Ecuador). En el día 6 (6h00 y 18h00) se aplicó 2 ml prostaglandina (VETEGLAN® Calier, Ecuador) + retiro del dispositivo intravaginal de progesterona. En el séptimo día (6h00) se colocó una segunda dosis de refuerzo de FSH (18h00= 2 ml) intramuscular. En el octavo día presentaran celo en la jornada vespertina, además, se administró 2,5 ml de GnRH (VETERELIN® Calier, Ecuador). Al día 9 se inseminó a las 06:00 am y 18H00 pm (Figura 15), el lavado fue realizado el día 15 del protocolo.

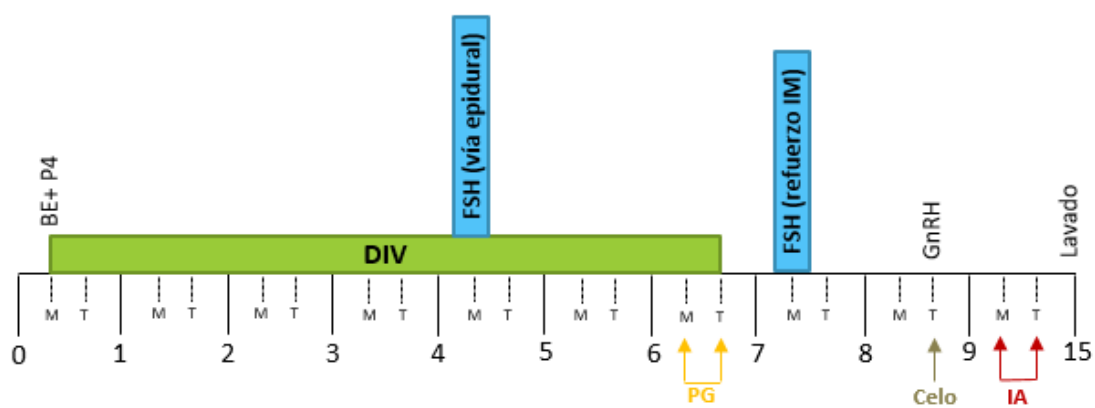


Figura 3.2. Protocolo de superovulación (SOV) vía epidural

3.7.4 VALORACIÓN DE LA RESPUESTA SOV

En el día ocho del protocolo de SOV se realizó una ultrasonografía con un ecógrafo portátil (Mindray® DP-50 Vet, Shenzhen, China), provisto de sonda lineal, con una frecuencia de 7.5 MHz, con el propósito de cuantificar el número de folículos estimulados presentes en cada uno de los ovarios, previo a la primera inseminación artificial para valorar la respuesta superovulatoria.

En el día quince, antes de la colecta de los embriones se evaluó mediante una ecografía endorectal la respuesta superovulatoria mediante el conteo de cuerpos lúteos.

3.7.5 LAVADO UTERINO DE LAS DONANTES

PREPARACIÓN PREVIA DE LA DONANTE AL PROCESO DE RECOLECCIÓN DE EMBRIONES

Los animales en estudio fueron colocados en una manga, asegurando medidas de bioseguridad para el técnico y el animal. Posteriormente se llevó a cabo la asepsia del tren posterior de cada vaca. Finalmente, se aplicó 5 ml del anestésico local (lidocaína al 2%) por vía epidural (última sacra y primera coccígea).

RECUPERACIÓN DE EMBRIONES

El lavado uterino de las donantes se realizó 7 días después de la inseminación artificial. Se empezó eliminando las heces fecales con el propósito de que no contaminen la sonda ni algún otro material. Luego se introdujo intravaginal el mandril con la sonda folley a través del cérvix, se atravesó el cuello y cuerpo del útero guiado por la mano izquierda vía rectal, llegando al cuerno en la parte media. Luego de la localización de la sonda se procedió a inflar el balón con la cantidad de aire necesario que mantuvo fija la sonda y además no permitió la salida de los embriones. Se utilizó la técnica abierta, con una jeringa se introdujo 20 ml de medio de lavado; vía rectal se realizó un breve masaje en el cuerno uterino y pasado unos minutos se absorbió la misma cantidad introducida, continuamente fue colocado en el filtro de colección. Dicho procedimiento se repitió dos a tres veces en cada cuerno uterino.

3.7.6 VALORACIÓN DE LOS EMBRIONES OBTENIDOS

Una vez recolectados los embriones en el filtro, se transfirieron a una caja petri para su examen bajo un estereoscopio. Después de localizarlos con una pipeta, se distribuyeron en una caja Petri de cuatro pocillos que facilitó cuantificar, además de evaluar su desarrollo y calidad de acuerdo con los criterios establecidos por la International Embryo Transfer Society (IETS, 2010).

3.8 DISEÑO EXPERIMENTAL

En esta investigación experimental, no fue posible la aplicación de un diseño experimental clásico, por esta razón se realizó una comparación de dos grupos homogéneos, conformados por grupo control y tratamiento.

3.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron tabulados en Excel y se analizaron mediante el programa estadístico Infostat versión 2020. Se establecieron estadígrafos primordiales. Se utilizó la prueba de shapiro Will para comprobar la normalidad de los datos. Para los valores que mostraron normalidad se usó la prueba de T de Student al 5% para comparar las variables cuantitativas (número de folículos, CL y producción de embriones). En los datos que no manifestaron normalidad se realizó la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney (Rivas *et al.*, 2013).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CONTABILIZACIÓN DE FOLÍCULOS PREOVULATORIOS

La evaluación ecográfica realizada en el día 8 del protocolo no reveló cambios significativos en el número total de folículos preovulatorios entre los diferentes tratamientos de superovulación (0.4228; $p > 0.05$) como se describe en la tabla 4.1.

Tabla 4.1 Valor medio del recuento de los folículos preovulatorios. T Student (5%)

	Grupo Epidural	Grupo Convencional	gl	p-valor
F. Preovulatorios (OD)	6.25 ± 1.26	8.00 ± 2.94	6	0.3162
F. Preovulatorios (OI)	8.25 ± 2.06	9.5 ± 3.51	6	0.5618
F. Preovulatorios Total	7.25 ± 1.91	8.75 ± 3.11	6	0.4228

gl= Grados de Libertad

p-valor= Valor de probabilidad

OD= Ovario derecho

OI= Ovario Izquierdo

Los resultados obtenidos en la presente investigación ($G1_{convencional} = 8.75 \pm 3.11$ vs $G2_{epidural + refuerzo IM} = 7.25 \pm 1.91$), son comparables a los obtenidos por Sakaguchi *et al.* (2018) que, a pesar de obtener una cantidad mayor a nuestra investigación, no observaron diferencias en el número de folículos preovulatorios entre los tratamientos. Además, difieren de los reportados por Ochea *et al.* (2015) en donde mostraron un promedio de 14 folículos en la respuesta superovulatoria, siendo superiores a los alcanzados en esta investigación. Esto debido a la variación de dosis administrada de FSH.

4.2 CONTABILIZACIÓN DE CUERPOS LÚTEOS Y FOLÍCULOS ANOVULATORIOS

En la presente investigación se reporta que el número de cuerpos lúteos contabilizados el día 15 del protocolo en el grupo convencional ($G1$) y epidural + refuerzo IM ($G2$) tampoco existe diferencias significativas ($p > 0.05$) con (0.1619) respectivamente como demuestra en la tabla 4.2.

Tabla 4.2 Número medio de cuerpos lúteos observados previo al lavado de embriones, en los dos grupos (convencional y epidural). Prueba T Student (5%)

	Grupo Epidural	Grupo Convencional	gl	p-valor
Cuerpos Lúteos (OD)	3.75 ± 1.26	4.75 ± 2.06	6	0.4393
Cuerpos Lúteos (OI)	4.50 ± 0.58	6.00 ± 0.82	6	0.024
Cuerpos Lúteos Totales	4.13 ± 0.99	5.38 ± 1.6	6	0.1619

gl= Grados de Libertad

p-valor= Valor de probabilidad

OD= Ovario derecho

OI= Ovario Izquierdo

En cuanto a los cuerpos lúteos totales se reportó un promedio de G1 (5.38 ± 1.6) y G2 (4.13 ± 0.99). Estos datos, son similares a los que obtuvo Tasdemir *et al.* (2012) el cual comparó tres grupos de superovulación (SOV), siendo dos tratamientos convencionales (D1 y D2) aplicando diferentes dosis y un tratamiento alternativo (E) por vía epidural más una aplicación IM, no se observaron diferencias significativas en el número medio de cuerpo lúteo (CL) entre los grupos que fueron D1 (3.7 ± 0.56); D2 (3.4 ± 0.55) y grupo E (6.0 ± 1.14)

Tríbulo (2015) evaluó la administración de FSH diluida en ácido hialurónico (AH) como coadyuvante en el protocolo superovulatorio usando tres tratamientos, obteniendo un total de cuerpos lúteos G1 control (13.2 ± 3.1), G2 alternativo AH vía IM (11.0 ± 2.0) y G3 alternativo AH vía SC (4.2 ± 1.0); los resultados de este último grupo son análogos a los obtenidos en la presente investigación G2 epidural + refuerzo IM (4.13 ± 0.99).

No obstante, Ochea *et al.*, (2015) determinaron que al usar una vía mixta (epidural + intramuscular) para la administración de FSH permitió obtener un promedio de 9 cuerpos lúteos valor superior al observado en el G2 epidural + refuerzo IM (4.13 ± 0.99) obtenido en este estudio. Sin embargo, Salinas (2013), encontró un promedio de cuerpos lúteos totales T1= FSH 360 mg + eCG 400 UI (6.2 ± 2.80); T2= FSH 360mg (8.2 ± 3.16), los cuales son mayores a los observados en el presente trabajo

En cuanto a los folículos anovulatorios, como se observa en la tabla 4.3, al aplicar la prueba estadística, reveló diferencias significativas entre los tratamientos (0.0358 ; $p < 0.05$).

Tabla 4.3 Número promedio de folículos anovulatorios, observados previo al lavado de embriones en los dos grupos (convencional y epidural). Prueba T Student (5%)

	Grupo Epidural	Grupo Convencional	gl	p-valor
F. Anovulatorio (OD)	0.00 ± 0.00	2.25 ± 1.26	6	0.0374
F. Anovulatorio (OI)	0.25 ± 0.50	1.75 ± 0.96	6	0.0321
F. Anovulatorio Total	0.13 ± 0.35	2.00 ± 1.07	6	0.0358

gl= Grados de Libertad

p-valor= Valor de probabilidad

OD= Ovario derecho

OI= Ovario Izquierdo

Los resultados del número de folículos anovulatorios obtuvieron una media de 2 ± 1.07 (convencional) y 0.13 ± 0.35 (vía epidural + IM). Siendo estos valores menores a los reportados por Intriago y Zambrano (2019) quienes en su investigación evaluaron el efecto de los niveles de hormona antimülleriana (AMH) sobre la respuesta superovulatoria y producción de embriones in vivo. Obteniendo en el rango 1(100 a 255 $\mu\text{g/mL}$) una media de 4.20 ± 0.97 y en el rango 2 (256 a 700 $\mu\text{g/mL}$) 3.60 ± 2.06 . Por otra parte, en la investigación de Salinas (2013) se reportó en el (T1= FSH 360mg + eCG) un promedio de 1 ± 1.33 folículos que no pudieron ovular y en el tratamiento sin esta hormona (T2= FSH 360mg) un promedio de 1.8 ± 1.79 .

4.3 NÚMERO DE ESTRUCTURAS Y EMBRIONES TRANSFERIBLES

No se evidenció diferencias estadísticas (0.0748; $p > 0.05$), al comparar el número total de estructuras embrionarias como se aprecia en la tabla 4.4.

Tabla 4.4 Número promedio de estructuras, embriones transferibles recuperadas luego del lavado en los dos grupos (convencional y epidural). Prueba T Student (5%)

	Grupo Epidural	Grupo Convencional	gl	p-valor
Cantidad Embrionaria	1.00 ± 1.41	5.25 ± 3.69	6	0.0748
Embriones transferibles	0.00 ± 0.00 (0.00 %)	3.25 ± 2.06 (61.90 %)		
Embriones no transferibles	1.00 ± 1.41 (100.00 %)	2.00 ± 2.45 (38.10 %)		

gl= Grados de Libertad

p-valor= Valor de probabilidad

En cuanto a las estructuras observadas se obtuvo un promedio de 5.25 ± 3.69 con el protocolo convencional de los cuales el 61.9 % fueron embriones

transferibles, mientras que, en el protocolo vía epidural + refuerzo IM se obtuvo 1 ± 1.41 , donde el 0% fueron embriones transferibles, dichos valores son menores a los reportados por Farías *et al.* (2023) en donde aplicaron dos tratamientos similares a este estudio (convencional vs epidural), obteniendo en T1 (Convencional) un promedio de 9.4 ± 1.05 estructuras, y de éstas, el 70.2 % fueron embriones transferibles, difiriendo estadísticamente ($p < 0.05$) de T2 (epidural), donde se colectaron 4.5 ± 1.29 estructuras, de las cuales el 57.8 % fueron embriones transferibles. De la misma manera, Tasdemir *et al.* (2012) evaluó 3 tratamientos de SOV (D1, D2 y E) siendo dos grupos convencionales en diferentes dosis y una alternativa por vía epidural más una aplicación IM, demostraron que no hubo diferencias en el rendimiento de embriones transferibles entre grupos (D1= 10/42, 23.8%; D2= 14/32, 43.8% y E= 19/82, 23.2%).

4.4 CALIDAD Y ESTADÍO EMBRIONARIO

No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de embriones en los diversos estadios entre los grupos ($p > 0.05$). En la tabla 4.5 se describen los valores encontrados para los distintos estadios embrionarios según su calidad del presente estudio determinado de acuerdo a los parámetros de la IETS (2016).

Tabla 4.5 Número promedio de embriones obtenidos según su estadio y calidad embrionaria presentes en los dos grupos. Prueba T Student (5%)

ESTADÍO	CONVENCIONAL				EPIDURAL			
	Calidad	Total	% Parcial	% Total Estructuras (n=21)	Total	% Parcial	% Total Estructuras (n=4)	
Mórulas	C1	1	0.25 ± 0.5	11%	0	0	0%	
	C2	4	1 ± 1.4	44%	0	0	0%	
	C3	3	0.75 ± 1	33%	0	0	0%	
	C4	1	0.25 ± 0.5	11%	3	0.75 ± 1.5	100%	
Mórula Temprana	C1	0	0	0%	0	0	0%	
	C2	0	0	0%	0	0	0%	
	C3	1	0.25 ± 0.5	100%	0	0	0%	
	C4	0	0	0%	0	0	0%	
Blastocitos Tempranos	C1	2	0.5 ± 0.6	67%	0	0	0%	
	C2	1	0.25 ± 0.5	33%	0	0	0%	
	C3	0	0	0%	0	0	0%	
	C4	0	0	0%	0	0	0%	
Blastocitos	C1	4	1 ± 1.4	57%	0	0	0%	

	C2	1	0.25 ± 0.5	14%		0	0	0%	
	C3	2	0	29%		1	0.25 ± 0.5	100%	
	C4	0	0.5 ± 0.6	0%		0	0	0%	
	C1	0	0	0%		0	0	0%	
Blastocitos Expandido	C2	0	0	0%	5%	0	0	0%	0%
	C3	1	0.25 ± 0.5	100%		0	0	0%	
	C4	0	0	0%		0	0	0%	

En cuanto a los estadios embrionario encontrados en esta investigación (52.00% de mórulas) y 48.00% de blastocistos difieren de los encontrados por Correa y Heredia (2017) que identificaron mórula (37.29%) y blastocisto (20.34%).

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

La administración epidural en combinación de un refuerzo intramuscular de la hormona folículo estimulante (FSH), induce un proceso superovulatorio con un número de folículos y cuerpos lúteos comparable al observado en el protocolo convencional, sin embargo, se observa una reducción mayor en la producción y calidad de embriones en comparación con la aplicación convencional de FSH.

5.2 RECOMENDACIONES

Variar la concentración de la dosis aplicada vía epidural, con la finalidad de identificar respuesta superovulatorias de mayor eficacia y efectividad, *in vivo* e *in vitro*.

Determinar dosis de GnRH optimas en protocolos de superovulación en vacas mestizas, con la finalidad de disminuir el número de folículos anovulatorios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araujo, D., y Cordero, P. (2021). *Efecto de la hormona foliculoestimulante (FSH) en dosis única por vía epidural, para la producción de embriones in vivo*. [Trabajo de titulación, Universidad de Cuenca]. Repositorio Institucional - Universidad de Cuenca. <http://dspace.u.cuenca.edu.ec/handle/123456789/37406>
- Aréchiga, C., Cortés, Z., Hernández, P., Flores, G., Rochín, F., y Ruiz, E. (2019). Función y regresión del cuerpo lúteo durante el ciclo estral de la vaca. *Abanico veterinario*, 9(1). <https://doi.org/10.21929/abavet2019.924>
- Bavera, G. (2005). *Fisiología reproductiva del bovino*. [Archivo PDF] https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/71-fisiologia_reproductiva_del_bovino.pdf
- Berisha, B., Schams, D., Kosmann, M., Amselgruber, W., y Einspanier, R. (2000). Expression and localisation of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor during the final growth of bovine ovarian follicles. *Journal of Endocrinology*, 167(3), 371-382. 10.1677/joe.0.1670371
- Bizarro, C., Santos, M., Gerez, J., González, S., Lisboa, L., y Seneda, M. (2018). Influence of follicle-stimulating hormone concentrations on the integrity and development of bovine follicles cultured in vitro. *Zygote*, 26(5), 417-423. 10.1017/S0967199418000497
- Bo, G., Mapletoft, R. (2013). Evaluación y clasificación de embriones bovinos. *Animal Reproduction*. 10(3), 344-348. <https://www.researchgate.net/publication/292575471>
- Bolívar, P., y Maldonado J. (2008). Análisis de costos de los esquemas de transferencia de embriones bovinos utilizados en Colombia. *Rev Colomb Cienc Pecu*, 21(3), 351-364. <https://doaj.org/article/89d68abebbe5414083ccb9f772cf9b7d>

- Cañón, H. y Hernández, J. (2020). *Efecto de la sincronización de la ovulación en receptoras de embriones usando benzoato de estradiol ó un análogo de GNRH sobre la tasa de preñez en programas de transferencia de embriones en bovinos*. [Proyecto de grado, Universidad de Cundinamarca]. Repositorio Institucional - Universidad de Cundinamarca. <https://repositorio.ucundinamarca.edu.co/bitstream/handle/20.500.12558/3467/CA%C3%91ON%20RODRIGUEZ%20HARLEY%20DAVID.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Casati, L. (2000). *Efecto de la administración epidural de anestésicos locales y opioides sobre la profundidad de la anestesia*. [Tesis de doctorado, Universidad Autónoma de Barcelona]. <http://hdl.handle.net/10803/5372>
- Chacón, F., Palacios, F., Sedano, R., y Ahuja, C. (2020). Embryo production after superovulation of bovine donors with a reduced number of FSH applications and an increased eCG dose. *Theriogenology*, 141, 168-172. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.09.018>
- Chumchai R, Ratsiri T, Ratchamak R, Vongpralub T, Boonkum W, Chankitisakul V. (2021). Ovarian responses and FSH profiles at superovulation with a single epidural administration of gonadotropin in the ThaiHolstein crossbreed. *Anim. Reprod*; 18(3). 10.1590/1984-3143-AR2021-0053
- Colazo, M., Mapletoft, R., Martínez, M., y Kastelic, J. (2007). El uso de tratamientos para sincronizar el celo y la ovulación en vaquillonas. *Ciencia veterinaria*, 9(1), 4-19. <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/view/1886>
- Contreras, S. (2018). Evaluación de diferentes metodologías de sincronización de la onda folicular y la ovulación sobre la eficiencia reproductiva en hembras bovinas doble propósito. [Tesis de grado, Universidad de Cundinamarca] <http://hdl.handle.net/20.500.12558/858>
- Correa, E., y Heredia, B. (2017). *Evaluación de la calidad y cantidad embrionaria en respuesta a dos protocolos hormonales de superovulación en vacas Girolando*. [Tesis de grado, Universidad de las Fuerzas Armadas,

- Sangolquí]. Repositorio de la Universidad de las Fuerzas Armadas. <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/13850>
- Cremonesi, F., Bonfanti, S., Idda, A., y Consiglio, L. (2020). Improvement of embryo recovery in holstein cows treated by intra-ovarian platelet rich plasma before superovulation. *Veterinary Sciences*, 7(1), 16. [10.3390/vetsci7010016](https://doi.org/10.3390/vetsci7010016)
- Crudeli, G. (2011). Fisiología reproductiva del búfalo. Producción en Argentina. *Revista Tecnología en Marcha*, 24(5), 74-81. https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/166/164
- Cutinni, A., Teruel, M., y Cabodevilla, J. (2000). Factores que determinan el resultado de la transferencia no quirúrgica de embriones bovinos. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 2(7), 28-39. https://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/transplante_embrionario/02-factores.pdf
- Demetrio, D., Benedetti, E., Demetrio, C., Fonseca, J., Oliveira, M., Magalhaes, A., y Santos, R. (2020). How can we improve embryo production and pregnancy outcomes of Holstein embryos produced in vitro? (12 years of practical results at a California dairy farm). *Animal Reproduction*, 17. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2020-0053>
- Domínguez, R., Ginther, O., Toledo, M., y Wiltbank, M. (2020). Increased dietary energy alters follicle dynamics and wave patterns in heifers. *Reproduction*, 160(6), 943-953. <https://doi.org/10.1530/REP-20-0362>
- Farías, M., Zambrano, J., Jácome, A., Dután, J., Garay, G., y Ayala, L. (2023). Efecto de la hormona Folículo-estimulante administrada vía epidural, sobre la respuesta ovárica y el perfil hormonal en vacas Holstein. *Revista Científica de la Facultad de Veterinaria*, 33(2). <https://doi.org/10.52973/rcfcv-e33253>
- Fátima, L., Binelli, M., Baruselli, P., Neto, A., y Papa, P. (2018). Angiogenic and steroidogenic responses of the corpus luteum after superovulatory and stimulatory treatments using eCG and FSH. *Animal Reproduction (AR)*,

9(3), 273-280. <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a6058f7783717068b46e6>

Fernández, E. (2014) *Producción De Embriones In Vivo En Tres Razas De Ganado Lechero* [Tesis de doctorado, Universidad Nacional Agraria La Molina] Repositorio de la Universidad Nacional Agraria La Molina. <https://hdl.handle.net/20.500.12996/2342>

Flores, C. y Flores, K. (2021). Pruebas para comprobar la normalidad de datos en procesos productivos: Anderson-Darling, Ryan-Joiner, Shapiro-Wilk y Kolmogórov-Smirnov. *Societas*, 23(2), 83-106. <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/341/3412237018/index.html>

García, P., Quintela, L., Becerra, J., y Peña, A. (20 de febrero de 2018). *La transferencia de embriones en bovinos*. Obtenido de portal veterinaria <https://www.portalveterinaria.com/rumiantes/articulos/14123/la-transferencia-de-embriones-en-bovinos.html>

González, A. (2007). *Anestesia epidural en los bovinos mediante agonistas alfa dos adrenérgicos y opiáceos*. [Tesis en obtención del título Licenciada en Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela Facultad De Veterinaria De Lugo] https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2361/9788497509510_content.pdf;jsessionid=0A9CBC06CEFA22D5F5A952678492C424?squence=1

Gosalvez, L. y Vidal, A. (2006). *La transferencia embrionaria en el ganado vacuno. Ministerio de agricultura pesca y alimentación. 2/94*. https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1994_02.pdf

Guáqueta, H. (1992). Ultrasonido como herramienta diagnóstica en la reproducción de la vaca. *Revista Genética bovina colombiana*. <https://revistageneticabovina.com/biotecnologia/ultrasonido/>

Hernández, J. (2016). *Fisiología Clínica de la Reproducción de Bovinos Lecheros*. Universidad Nacional Autónoma de México.

https://www.fmvz.unam.mx/fmvz/publicaciones/archivos/Fisiologia_Clinica.pdf

- INTAGRI. (2018). Biotecnología aplicada a la reproducción bovina. *Artículos Técnicos de INTAGRI*. (14). <https://www.intagri.com/articulos/ganaderia/biotecnologia-aplicada-a-la-reproduccion-bovina>
- Intriago, W. y Zambrano, T. (2019). *Niveles séricos de la hormona antimülleriana en donadoras Brahman y su efecto en la respuesta superovulatoria y la producción de embriones*. [Tesis de doctorado, Universidad ESPAM MFL] <https://repositorio.espam.edu.ec/xmlui/handle/42000/16/browse?type=subject&value=In+Vivo>
- Jiménez, C. (2009). Superovulación: Estrategias, factores asociados y predicción de la respuesta superovulatoria en bovinos. *Rev. Med. Vet. Zoot*, 56(III), 195–214. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=407639221005>
- Kelly, P., Duffy, P., Roche, J., y Boland, M. (1997). Superovulation in cattle: effect of FSH type and method of administration on follicular growth, ovulatory response and endocrine patterns. *Animal Reproduction Science*, 46(1 y 2), 1-14. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(96\)01589-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(96)01589-8)
- Khan, A., Dou, J., Wang, Y., Jiang, X., Khan, M. Z., Luo, H., y Zhu, H. (2020). Evaluation of heat stress effects on cellular and transcriptional adaptation of bovine granulosa cells. *Journal of animal science and biotechnology*, 11(1), 1-20. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0408-8>
- Kimura, K. (2016). Superovulation with a single administration of FSH in aluminum hydroxide gel: a novel superovulation method for cattle. *Journal of Reproduction and Development*, 62(5), 423-429. <https://doi.org/10.1262/jrd.2016-066>
- Landry, D., y Sirard, M. (2018). Follicle capacitation: a meta-analysis to investigate the transcriptome dynamics following follicle-stimulating hormone decline in bovine granulosa cells. *Biology of Reproduction*, 99(4), 877-887. <https://doi.org/10.1093/biolre/i0y090>

- Luo, Y., Zhang, R., Gao, J., Wang, Y., Zhang, W., y Qing, S. (2020). The localization and expression of epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor in bovine ovary during oestrous cycle. *Reproduction in Domestic Animals*, 55(7), 822-832. <https://doi.org/10.1111/rda.13690>
- Mapletoft, R. (2018). History and perspectives on bovine embryo transfer. *Animal Reproduction (AR)*, 10(3), 168-173. <https://animal-reproduction.org/article/5b5a6048f7783717068b468e/pdf/animreprod-10-3-168.pdf>
- Marshall, K., y Rivera, R. (2018). The effects of superovulation and reproductive aging on the epigenome of the oocyte and embryo. *Molecular reproduction and development*, 85(2), 90-105. <https://doi.org/10.1002/mrd.22951>
- Martínez, L. (2009). *Fisiología de la reproducción Bovina: Desde la Fecundación hasta la implantación embrionaria*. [Tesis de grado, Universidad de la Salle Programa de Medicina Veterinaria] https://www.academia.edu/download/55563300/T14.09_C275f.pdf
- Mikkola, M., Hasler, J., y Taponen, J. (2020). Factors affecting embryo production in superovulated *Bos taurus* cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 32(2), 104-124. <https://doi.org/10.1071/RD19279>
- Mogollón, É. y Burla, A. (2013). Superovulación de hembras bovinas: alternativas para reducir el número de inyecciones de FSH. *Spei Domus*, 9(18), 37-47. <https://doi.org/10.16925/sp.v9i18.545>
- Morales, M., Vargas, J., Salazar, R., y Mancheno, R. (2019). Protocolos de superovulación utilizando diferentes dosis de gonadotropina coriónica equina (ECG) en la producción de embriones ovinos. *Ecuador es Calidad: Revista Científica Ecuatoriana*, 6(1), 59-64. <https://doi.org/10.36331/revista.v6i1.66>
- Nebel, R., y DeJarnette, M. (2011). Anatomía y fisiología de la reproducción bovina. SELECT SIRE INC, 6. https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/97-fisiologia.pdf

- Obando, D. (2020). *Bases farmacológicas y actualización de la sincronización del celo bovino*. [Seminario de Profundización de Reproducción Bovina. Universidad Cooperativa de Colombia, Villavicencio.] <https://repository.ucc.edu.co/server/api/core/bitstreams/1da85936-9b0c-4c15-b8b2-bb1a679c0578/content>
- Ochea, M., Pascal, M., Şonea, A., y Bîrţoiu, A. (2015). The effect of epidural administration of FSH in bovine superovulation protocol. *Sci Pap Ser D. Anim Sci*, 58, 217–220. <https://animalsciencejournal.usamv.ro/pdf/2015/Art37.pdf>
- Palma, G. (2001) *Bioteología de la Reproducción*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. https://books.google.com.ec/books?id=zmHbayu_hfIC&printsec=frontcover&source=gbs_ViewAPI&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Parra, M., Parra, C., Álvarez, S., Garzón, D., García, G., Inga, C., y Lucero, A. (2018). Assessment of two Superovulation Protocols for Embryo Production in Holstein Cows. *Revista de Producción Animal*, 30(2), 54-58. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/30584/1/documento.pdf>
- Paulino, L., Barroso, P., Silva, A., Souza, A., Bezerra, F., Silva, B., y Silva, J. (2020). Effects of epidermal growth factor and progesterone on development, ultrastructure and gene expression of bovine secondary follicles cultured in vitro. *Theriogenology*, 142, 284-290. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.10.031>
- Pinel, R., y Pérez, P. (2017). *Fundamentos de fisiología y endocrinología reproductiva en animales domésticos*. Universidad Santo Tomás. https://www.academia.edu/42069596/Fundamentos_de_Fisiolog%C3%A Da_y_Endocrinolog%C3%ADa_Reproductiva_en_Animales_Dom%C3%A9sticos
- Rioja, E., Rubio, L., Monteith, G. y Kerr, C. (2013). Efectos analgésicos y motores de una inyección epidural intercoccígea de alto volumen de bupivacaína

al 0,125% o al 0,0625% en vacas adultas. *Revista canadiense de investigación veterinaria*, 77 (4), 273-280.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3788658/>

Rivas, R., Moreno, J., y Talavera, J. (2013). Investigación clínica XVI. Diferencias de medianas con la U de Mann-Whitney. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 51(4), 414-419.
<https://www.redalyc.org/pdf/4577/457745490011.pdf>

Robbe, D., D'Ottavio, M., y Sciorsci, R. (2002). *Tratamiento de los quistes foliculares de la vaca. Administración de GnRH por vía epidural*. Fatro Uriach. <https://fatroiberica.es/wp-content/uploads/2017/06/Dalmarelin-Informe.pdf>

Rosales, F., Rosendo, A., Canseco, R., Cortez, C., Torres, G., y Becerril, C. (2018). Superovulation of tropical milking criollo females. *Revista Científica*, (2), 146-152.
<https://www.redalyc.org/journal/959/95955158009/html/>.

Roth, Z. (2020). Reproductive physiology and endocrinology responses of cows exposed to environmental heat stress-Experiences from the past and lessons for the present. *Theriogenology*, 155, 150-156.
10.1016/j.theriogenology.2020.05.040

Sakaguchi, K., Ideta, A., Yanagawa, Y., Nagano, M., y Konishi, M. (2018). Effect of a single epidural administration of follicle-stimulating hormone via caudal vertebrae on superstimulation for in vivo and in vitro embryo production in Japanese black cows. *Journal of Reproduction and Development*, 64(5), 451-455. <https://doi.org/10.1262/jrd.2018-007>

Salinas, D. (2013). *Efecto de la aplicación de gonadotrofina coriónica equina (eCG) en vacas donantes superovuladas con Folltropin-v (FSH-p liofilizada)*. [Tesis de doctorado, Universidad de Cuenca] Repositorio de la Universidad de Cuenca.
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/3410>

- Sanderson, N., y Martínez, M. (2020). A single administration of a long-acting recombinant ovine FSH (roFSH) for cattle superovulation. *Theriogenology*, 154, 66-72. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.04.037>
- Santiago, N. (2022). Sincronización de onda folicular con progesteronas para la recolección de ovocitos guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss, Huancayo-2021. [Tesis de grado, Universidad Peruana Los Andes] Repositorio de la Universidad Peruana, Los Andes. <https://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12848/4802/TESIS%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Satilmis, M., Yilmaz, M., Sevgi, R., Karaşahin, T., Kizil, S., Okuroğlu, A. y Yildirim, Z. (2021). The Effect of Epidural Application of FSH on Superovulatory Response in Eastern Anatolian Red Cow. *Livestock Studies*, 61(2), 82-87. <http://doi.org/10.46897/livestockstudies.610206>
- Silva, J., Álvarez, R., Zanenga, C., y Pereira, G. (2018). Factors affecting embryo production in superovulated Nelore cattle. *Animal Reproduction (AR)*, 6(3), 440-445. <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a6070f7783717068b4775>
- Sudano, M. J., Landim, F., Sartori, R., y Machado, R. (2011). Reuse of norgestomet implants in an eCG-based superovulation protocol administered to Nelore (*Bos taurus indicus*) cows. *Livestock Science*, 141(2-3), 207-212. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.06.003>
- Tasdemir, U., Satilmis, M., Karasahin, T., Kizil, S., Kaymaz, M. y Imai, K. (2012). The effect of single epidural plus intramuscular injection of FSH on superovulatory response in Anatolian Black cow. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 59(3), 211-216. https://doi.org/10.1501/Vetfak_0000002527
- Tocarruncho, F. (2015) *Superovulación y transferencia de embriones en bovinos* [Tesis no publicada, Universidad de La Salle]. https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1371&context=medicina_veterinaria

- Torres, M., y Maldonado, J. (2022). Ultrasonografía y descripción fisiológica de eventos esenciales para el manejo reproductivo en ganado lechero. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 13(2), 452-472. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v13i2.5789>
- Tríbulo, A. (2015) *Superovulación de vacas donantes de embriones utilizando una o dos aplicaciones de hormona folículo estimulante*. [Tesis de doctorado, Universidad Nacional de Córdoba]. <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/1815/Tr%C3%ADbulo%2C%20Andr%C3%A9s%20%20%20Superovulaci%C3%B3n%20de%20vacas%20donantes%20de%20embriones%20utilizando%20una%20o%20dos%20aplicaciones....pdf?sequence=6&isAllowed=y>
- Villaseñor, F., Torre, J., Martínez, G., Álvarez, H., Pérez, S., Palacios, J., y Montaña, M. (2017). Caracterización de la respuesta ovárica a la superovulación en bovino Criollo Coreño utilizando dosis reducidas de FSH. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 8(3), 225-232. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242017000300225
- Warma, A., y Ndiaye, K. (2020). Functional effects of Tribbles homolog 2 in bovine ovarian granulosa cells. *Biology of reproduction*, 102(6), 1177-1190. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioaa030>
- Yamamoto, M., Ooe, M., Kawaguchi, M., y Suzuki, T. (1994). Superovulation in the cow with a single intramuscular injection of FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology*, 41(3), 747-755. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)90184-K](https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)90184-K)
- Zeas, M. (2007). *Superovulación en vacas Holstein lactantes con dosis única de FSH*. [Tesis de maestría, Universidad de Cuenca]. Repositorio Institucional - Universidad de Cuenca. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/18184>

ANEXOS

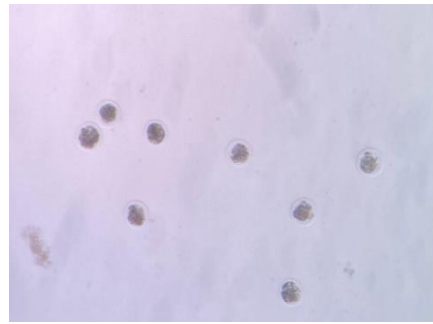
Anexo 1. Selección de animales**Anexo 2.** Inicio del protocolo de SOV.**Anexo 3.** Aplicación de FSH vía epidural**Anexo 4.** Observación y detección de celo

Anexo 5. Inseminación artificial**Anexo 6. Valoración de la ovulación****Anexo 7. Recolección de embriones****Anexo 8. Valoración de los embriones obtenidos**

Anexo 9. Folículos preovulatorios



Anexo 10. Embriones colectados



PRUEBAS ESTADÍSTICAS

InfoStat/E - [TESIS EMBRION PARTE 1]

Archivo Edición Datos Resultados Estadísticas Gráficos Ventanas Aplicaciones Ayuda

Caso	PROCESO	FPO Total	FPO(OD)	FPO(OI)	CL TOTAL	CL (OD)	CL (OI)	FAO TOTAL	FAO (OD)	FAO (OI)	ESTRUCTURAS
1	PC	13	6	7	13	6	7	3	2	1	10
2	PC	25	13	12	13	7	6	7	4	3	5
3	PC	20	12	8	9	3	6	3	1	2	1
4	PC	12	7	5	8	3	5	3	2	1	5
5	PA	14	8	6	10	5	5	0	0	0	0
6	PA	11	6	5	9	4	5	0	0	0	0
7	PA	19	11	8	6	2	4	0	0	0	1
8	PA	14	8	6	8	4	4	1	0	1	3
9											

Real Registros: 9*11

Ingreso de Datos

InfoStat/E - [TESIS EMBRION PARTE 1]

Archivo Edición Datos Resultados Estadísticas Gráficos Ventanas Aplicaciones Ayuda

Caso	PROCESO	FPO Total	FPO(OD)	FPO(OI)	CL (OI)	FAO TOTAL	FAO (OD)	FAO (OI)	ESTRUCTURAS
1	PC	13	6	7	7	3	2	1	10
2	PC	25	13	12	6	7	4	3	5
3	PC	20	12	8	6	3	1	2	1
4	PC	12	7	5	5	3	2	1	5
5	PA	14	8	6	5	0	0	0	0
6	PA	11	6	5	5	0	0	0	0
7	PA	19	11	8	4	0	0	0	1
8	PA	14	8	6	4	1	0	1	3
9									

Real Registros: 9*11

Proceso Prueba T Student (5%)

InfoStat/E - [TESIS EMBRION PARTE 1]

Archivo Edición Datos Resultados Estadísticas Gráficos Ventanas Aplicaciones Ayuda

Caso	PROCESO	FPO Total	FPO(OD)	FPO(OI)	CL TOTAL	CL (OD)	CL (OI)	FAO TOTAL	FAO (OD)	FAO (OI)	ESTRUCTURAS
1	PC	13	6	7							10
2	PC	25	13	12							5
3	PC	20	12	8							1
4	PC	12	7	5							1
5	PA	14	8	6							5
6	PA	11	6	5							0
7	PA	19	11	8							0
8	PA	14	8	6							1
9											3

Prueba T para muestras independientes

Variables: FPO(OD), FPO(OI), FPO Total

Criterios de clasificación: PROCESO

8(0)

Seleccionar si contiene...

Cancelar Limpiar

Aceptar

Real Registros: 9*11

Selección de datos

InfoStat/E - [TESIS EMBRION PARTE 1]

Archivo Edición Datos Resultados Estadísticas Gráficos Ventanas Aplicaciones Ayuda

Caso	PROCESO	FPO Total	FPO(OD)	FPO(OI)	CL TOTAL	CL (OD)	CL (OI)	FAO TOTAL	FAO (OD)	FAO (OI)	ESTRUCTURAS
1	PC	13	6	7	13	6	7	3	2	1	10
2	PC	25	13	12	13	7	6	7	4	3	5
3	PC	20	12	8	9	2	6	2	4	2	1
4	PC	12	7	5	8						5
5	PA	14	8	6	10						0
6	PA	11	6	5	9						0
7	PA	19	11	8	6						0
8	PA	14	8	6	8						1
9					8						3

Prueba T para muestras independientes

Comparaciones: Todos contra todos

pruebas: Bilateral

Presentación: Horizontal

Usar la corrección de Satterthwaite si las varianzas no son homogéneas para un nivel de significación del 5%

Aceptar Cancelar Ayuda

Real Registros: 9*11

Configuración salida de Resultados

InfoStat/E

Archivo Edición Datos Resultados Estadísticas Gráficos Ventanas Aplicaciones Ayuda

TESIS EMBRION PARTE 1

Resultados

C:\Users\JORGE TERAN SANCHEZ\Desktop\TESIS EMBRION PARTE 1.IDB2 : 26/4/2024 - 12:51:03 - [Versión : 30/4/2020]

Prueba T para muestras Independientes

Clasific	Variable	Grupo 1	Grupo 2	Media(1)	Media(2)	LI(95)	LS(95)	pHomVar	p-valor	prueba
PROCESO	FPO (OD)	(FA)	(FC)	8,25	9,50	-6,23	3,73	0,4049	0,5618	Bilateral
PROCESO	FPO (O2)	(FA)	(FC)	6,25	9,00	-5,67	2,17	0,1563	0,3162	Bilateral
PROCESO	FPO Total	(FA)	(FC)	14,50	17,50	-11,54	5,54	0,3390	0,4228	Bilateral

Prueba t MI

Salida de Resultados

Prueba de normalidad (Shapiro-Wilks)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p (Unilateral D)
Folículos Preovulatorios	8	16	4,84	0,87	0,2406
Cuerpos Luteos	8	9,5	2,45	0,89	0,333
Folículos Anovulatorios	8	2,13	2,42	0,82	0,0743
ESTRUCTURAS	8	3,13	3,44	0,85	0,1513