



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MAESTRÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL.

TITULO:

“Efecto del número de partos, tamaño del cuerpo lúteo y concentración sanguínea de progesterona sobre la tasa de preñez en receptoras de embriones bovinos.”

**TESIS PREVIA A LA OBTENCION DEL TITULO DE
MAGISTER EN REPRODUCCION ANIMAL**

AUTOR: Dr. JHON SANDRO MONTENEGRO MERCHÁN

CI: 1600313108

DIRECTOR: Dr. CARLOS LEONARDO TIXI VERDUGO MSc

CI: 0301847109

CUENCA, ECUADOR

2017



RESUMEN

La investigación se realizó en los cantones de Palora, Huamboya, Pablo Sexto y Morona, de la Provincia de Morona Santiago; el objetivo planteado de este estudio fue determinar la tasa de preñez en receptoras con diferente número de partos, en programas de transferencia de embriones (TE) para lo cual, se utilizaron 60 hembras bovinas, seleccionadas en las ganaderías de los citados cantones. Previo al inicio de los tratamientos, los animales fueron incluidos en un programa de control del ciclo estral mediante sincronización del celo, utilizando progestágenos para transferencia de embriones a tiempo fijo. Se consideraron tres categorías de receptoras: vaconas, vacas de primer parto y vacas multíparas, se hicieron las siguientes determinaciones por ultrasonografía: Día 0 (celo), se realizó la medición del tamaño del folículo preovulatorio, el día 7 se determinó el tamaño del cuerpo lúteo y extracción de sangre para medir niveles de progesterona. En este mismo día se realizó la transferencia del embrión. Posteriormente en el día 45 se diagnosticó preñez de las receptoras. Se determinó una tasa de preñez del 65 %, la tasa más alta de preñez fue para las multíparas, en segundo lugar están las primíparas y finalmente las novillas. Se establece que las tasas de preñez de las tres categorías son estadísticamente no significativas $p>0.005$. En cuanto al tamaño del folículo evaluado en el día del celo, para las preñadas fue 16,18 mm, y 15,52 mm para las vacías, denotándose mayor variabilidad del tamaño de esta estructura en las vacías que en las preñadas.

PALABRAS CLAVE: RECEPTORAS, PREÑEZ, FOLÍCULO, CUERPO LÚTEO, PROGESTERONA, EMBRIONES.



ABSTRACT

The research was carried out in Palora, Huamboya, Pablo Sexto and Morona counties in Morona Santiago province. The propounded objective of this study was to determine the pregnancy rate in recipient cows with different number of births, in embryos-transfer (ET) programs. 60 bovine females were selected from the farms of those counties mentioned above. Before starting the treatments, the animals were included in a control program of the estrous cycle by estrus synchronization using progestogens for embryo-transfer at a fixed time. Three categories of recipients were considered: heifers, primiparous cows and multiparous cows. Also, the following determinations were made by ultrasonography: day 0 (estrus), preovulatory follicle size measuring was performed. On day 7 (embryo-transfer), size of the luteum corpus determination was measured and progesterone levels were determined. Additionally, at day 45, a pregnancy test was practiced. It was determined to an overall rate of 65%, the highest rate of pregnancy was for multiparous, second was for primiparous and third was for heifers. Set that the differences between pregnancy rates of the three categories are statistically not significant $p>0.005$. About the size of the evaluated follicle on the estrus day for pregnant recipients was 16.18 mm and 15.52 mm for non-pregnant, denoting a considerable variability of the size of this structure in non-pregnant rather than in pregnant recipients.

KEYWORDS: RECIPIENT COWS, PREGNANCY, FOLLICLE, LUTEUM CORPUS, PROGESTERONE, EMBRYOS.



ÍNDICE

DERECHOS DE AUTOR.....	1
CLAUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
DEDICATORIA	4
RESUMEN.....	5
ABSTRACT	6
ÍNDICE	7
LISTA DE TABLAS.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE ANEXOS.....	12
CAPITULO I: INTRODUCCIÓN.....	15
CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 FASES DEL CICLO ESTRAL	17
2.1.1 Fase folicular o de regresión lútea (proestro)	17
2.1.2 Fase periovulatoria (estro y metaestro)	18
2.1.3 Fase Luteal o Diestro	19
2.2 TRANSFERENCIA DE EMBRIONES BOVINOS.....	20
2.2.1 Selección de la hembra donante	21
2.2.2 Transferencia quirúrgica.....	23
2.2.3 Transferencia no quirúrgica.....	24
2.2.4 Implementación de un programa genómico para la identificación de donantes.	27
2.3 FACTORES QUE AFECTAN LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA DE LA RECEPTORA EN UN PROGRAMA DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.....	29
2.3.1 Selección de hembras receptoras.....	29
2.3.2 Manejo de receptoras.....	30
2.3.3 Evaluación de las estructuras ováricas de la hembra receptora.....	32
2.3.4 Edad de las receptoras.....	33
2.3.5 Sincronización de receptoras.	33
2.3.6 Factores que afectan la preñez en programas de transferencia de	



embriones.....	34
2.4 SINCRONIZACION DE CELOS ENTRE RECEPTORAS Y DONANTES.....	37
2.4.1 Programas de sincronización de celos de receptoras de embriones bovinos.....	37
2.5 INSTALACIONES PARA LA COLECCIÓN, LAVADO Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.....	40
2.6 DINÁMICA DEL DESARROLLO FOLICULAR OVÁRICO DURANTE EL CICLO ESTRAL EN EL BOVINO	41
2.6.1 Dinámica folicular ovárica durante el ciclo estral en bovinos	42
2.6.1.1 Reclutamiento	43
2.6.1.2 Selección	44
2.6.1.3 Dominancia	44
2.6.2 Control hormonal de la dinámica folicular ovárica	47
2.6.3 Desviación folicular y selección del folículo dominante entre Bos taurus y Bos indicus.....	47
2.6.3.1 Adquisición de la capacidad ovulatoria	49
2.6.3.2 Tamaño máximo del folículo dominante/folículo ovulatorio, CL y hormonas circulantes	50
2.7 CUERPO LUTEO	51
2.7.1 Tamaño del cuerpo lúteo y niveles de progesterona	51
2.7.2 Diámetro del cuerpo lúteo.....	52
2.7.3 Criterios de clasificación de un CL normal de 7 días.....	53
2.8 ECOGRAFÍA REPRODUCTIVA	54
2.8.1 ¿Qué es y cómo funciona la ecografía?	54
2.8.2 Ecografía reproductiva	56
2.8.3 Aplicaciones de la ecografía en reproducción bovina.....	56
2.8.4 Ecografía del cuerpo lúteo.....	58
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	59
3.1 MATERIALES.....	59
3.1.1 Biológicos	59
3.1.2 Físicos	59
3.1.3 Químicos	59
3.2 MATERIALES DE OFICINA.....	59



3.3 MÉTODOS	60
3.3.2 Criterios de inclusión	60
3.3.3 Criterios de exclusión	60
3.3.3 Descripción de la unidad de análisis.	60
3.4 Procedimiento	61
3.4.1 Sincronización de las receptoras.....	62
3.4.2 Tamaño del folículo.....	63
3.4.3 Transferencia de embriones Charoláis, tamaño de cuerpo lúteo y toma de muestras de sangre	
3.4.4. Evaluación de preñez.....	63
3.5 DISEÑO ESTADÍSTICO	63
3.5.1. Prueba de la hipótesis.....	64
3.5.2 Tasas o frecuencias	65
3.5.2.1 Retención embrionaria	65
3.5.3 Medidas de tendencia central y dispersión.....	65
3.5.4 Pruebas de comparación.....	65
3.5.4.1 Retención embrionaria	65
3.5.4.2. Retención vs tamaño de folículo, cuerpo lúteo y progesterona	65
3.5.5. Pruebas de asociación	65
3.5.5.1. Retención embrionaria por categoría	65
3.5.5.2. Retención embrionaria vs Tamaño folicular, cuerpo lúteo y progesterona.	
.....	65
CAPITULO IV: RESULTADOS	66
4.1 TASAS DE PREÑEZ POR CATEGORÍA	66
4.2 PRUEBAS DE HIPÓTESIS	67
4.3 RELACION DEL TAMAÑO DE LAS ESTRUCTURAS OVÁRICAS Y PROGESTERONA CON LA PREÑEZ	68
CAPITULO V: DISCUSIÓN	71
CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	73
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	74
ANEXOS.....	81



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Respuesta a la selección de acuerdo al porcentaje de donantes utilizadas	28
Tabla 2. Efecto de la edad de la receptora sobre el índice de preñez de TE	33
Tabla 3. Características de la unidad de análisis de los grupos de estudio.	61
Tabla 4. Caracterización de los tratamientos.	62
Tabla 5. Protocolo de sincronización de las receptoras.	62
Tabla 6. Categorías de las receptoras	64
Tabla 7. Frecuencia de preñez en tres categorías de receptoras de embriones bovinos Charoláis.	66
Tabla 8. Estadísticos del folículo, cuerpo lúteo y progesterona plasmática en receptoras preñadas y vacías, sin categorización.	68
Tabla 9. Estadísticos descriptivos de las estructuras ováricas por categoría de receptoras, al día 7 de la transferencia.	69



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de las hormonas del ciclo estral	17
Figura 2. Quicklock® ET de acero inoxidable, soporte de las vainas.	26
Figura 3. Predicción Genética para Merito Neto Vitalicio.	27
Figura 4. Representación esquemática de la dinámica folicular en bovinos	42
Figura 5. Representación del desarrollo folicular en Bos Indicus y Bos Taurus.	48
Figura 6. Emisión y recepción de ondas de ultrasonido desde un transductor hacia los órganos reproductivos de la vaca	55
Figura 7. Prueba de significación de Chi cuadrado al 5%	64
Figura 8. Tasa de preñez por categoría	67



LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Frecuencias observadas y esperadas de preñez por categoría, de la prueba de Chi cuadrado	81
Anexo 2. Pruebas de Chi-cuadrado	81
Anexo 3. Test de normalidad para estructuras foliculares y niveles de progesterona en sangre según diagnóstico de preñez.	82
Anexo 4. Prueba de Mann Whitney para relación de estructuras con la preñez.	82
Anexo 5. Estadísticos de la prueba de Mann Whitney	83
Anexo 6. Prueba de Kruskal Wallis para relación de estructuras con categorías.	83
Anexo 7. Estadísticos de la prueba de Kruskal Wallis.	84
Anexo 8 Ficha de Campo Cantón Huamboya (Libertad).	85
Anexo 9. Ficha de campo Cantón Huamboya (Huambuchentza).	86
Anexo 10. Ficha de Campo Cantón Morona (Uyuntza).	87
Anexo 11. Ficha de campo Cantón Palora (Sangay).	88
Anexo 12. Ficha de campo Cantón Huamboya (Libertad).	89
Anexo 13. Ficha de Campo Cantón Huamboya (Vía a Macas KM 4).	90
Anexo 14. Ficha de Campo Cantón Huamboya (Vía Macas KM 4).	91
Anexo 15. Ficha de campo Cantón Huamboya (Najembalime KM 2).	92
Anexo 16. Ficha de campo Cantón Huamboya (Najembalime KM2).	93
Anexo 17. Ficha de campo Cantón Morona (Uyuntza).	94
Anexo 18. Ficha de Campo Cantón Morona (Uyuntza).	95
Anexo 19. Ficha de Campo Cantón Pablo Sexto (Vía Palora KM 6).	96
Anexo 20. Ficha de Campo Cantón Pablo Sexto (Vía Palora Km 6).	97
Anexo 21. Preparación de las receptoras.	98
Anexo 22. Evaluación de receptora en el día 0 del celo sincronizado.	98
Anexo 23. Evaluación del tamaño del folículo 1.	99
Anexo 24. Evaluación del tamaño del folículo 2.	99
Anexo 25. Equipo de trasferencia de embriones.	100
Anexo 26. Embriones frescos para transferir.	100
Anexo 27. Toma de muestra de sangre para medir niveles de progesterona 1.	102
Anexo 28. Toma de muestra de sangre para medir niveles de progesterona 2.	102
Anexo 29. Evaluación del cuerpo lúteo 2	103
Anexo 30. Receptora preñada 1	103
Anexo 31. Receptora preñada 2	104
Anexo 32. Resultados de Exámenes de sangre Sector Morona-Uyuntza.	105
Anexo 33. Resultados de Exámenes de sangre Cantón Huamboya (Libertad).	106
Anexo 34. Resultados de sangre Cantón Huamboya (Huambuchense).	107
Anexo 35. Resultados de Exámenes de sangre Cantón Morona (Uyuntza).	108
Anexo 36. Resultados de Exámenes de sangre Cantón Palora (Km 8 vía a Sangay)	109
Anexo 37. Resultados de Exámenes de sangre Cantón Morona (Uyuntza).	110
Anexo 38. Resultados de Exámenes de sangre Cantón Pablo Sexto (Vía Palora)	111

ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero que transfiere el código genético.

CL: Cuerpo Lúteo

E2: Estradiol

eCG: Gonadotropina coriónica equina

EGF: Factor de crecimiento epidérmico

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay: “Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas”

FGF: Factor de crecimiento fibroblástico.

FSH: Hormona Foliculoestimulante.

GAPDH: Enzima Gliceraldehido-3 fosfato deshidrogenasa.

GnRH: Hormona liberadora de Gonadotropinas.

HGG: Gonadotropina coriónica.

IGF-I: Factor de crecimiento

IA: Inseminación Artificial

IATF: Inseminación Artificial a tiempo fijo

IC: Intervalo de confianza

IGF-1: Factor de crecimiento insulínico tipo 1.

LH: Hormona Luteinizante

LPH: Hormona Lipotropina

ml: Mililitro

ng: Nanogramos.

P4: Progesterona

PGF2α: Prostaglandi

pH: Potencial hidrógeno

SOV: Superovulación

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences (programa estadístico de las ciencias sociales)

TE: Transferencia de Embriones

TETF: Transferencia embrionaria a tiempo fijo.

TGF: Factor de crecimiento transformador

Ug: Microgramos

mm: milímetros

DVB: Diarrea viral bovina

IBR: Rinotraqueitis infecciosa bovin



CLAUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Jhon Sandro Montenegro Merchán, autor de la tesis "Efecto del número de partos, tamaño del cuerpo lúteo y concentración sanguínea de progesterona sobre la tasa de preñez en receptoras de embriones bovinos", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca 18 de abril de 2017

Jhon Sandro Montenegro Merchán

C.I: 1600313108



DERECHOS DE AUTOR

Jhon Sandro Montenegro Merchán autor de la tesis "Efecto del número de partos, tamaño del cuerpo lúteo y concentración sanguínea de progesterona sobre la tasa de preñez en receptoras de embriones bovinos.", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de **MAGISTER EN REPRODUCCION ANIMAL**. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca 18 de abril de 2017

Jhon Sandro Montenegro Merchán

C.I: 1600313108





AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento, al Dr. Carlos Tixi, por su apoyo como Director en el presente trabajo de investigación. A los ganaderos de la provincia de Morona Santiago por su colaboración y ayuda, facilitando y confiando los animales para ejecutar el plan de transferencia de embriones. A la Asociación Charolais de Morona Santiago, al Dr. Eduardo Escribano por su valiosa colaboración y ayuda incondicional en el desarrollo del trabajo de transferencia de embriones

JHON SANDRO MONTENEGRO MERCÁN



DEDICATORIA

A mi esposa Miriam Elizabeth por su apoyo, dedicación y esfuerzo incondicional para ayudarme a cumplir una meta más en mi vida. A mis hijas Paola, Damaris, Samanta y a mi hijo Jhon Alexander que son el motor de mi vida. A mis hermanos por compartir momentos buenos y malos de la vida. A mis Padres, Juan Montenegro y Teresa Merchán por su sacrificio y esfuerzo al apoyarme en mi superación para salir adelante. A Dios por regalarme cada día cada instante de vida.

JHON SANDRO MONTENEGRO MERCHÁN



CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

La implementación de biotecnologías aplicadas en la reproducción animal alcanzado gran importancia en el mundo ya que permiten alcanzar un mejoramiento genético acelerado, al aumentar la decencia de alto valor genético. (Bó, 1996)

La modificación y la manipulación de los ciclos para que todas las hembras presenten celo en un período breve de tiempo es el objetivo que ha motivado el desarrollo de numerosas líneas de investigación por muchos años. El uso de la ultrasonografía para estudiar el efecto de distintos tratamientos hormonales sobre la dinámica folicular en el bovino ha llevado al desarrollo de protocolos que permiten manipular eficientemente el ciclo estral y la ovulación. En la actualidad existen numerosos protocolos de sincronización de celos y ovulaciones y cada uno de ellos tiene sus ventajas y desventajas. Muchos estudios indican que se puede obtener una aceptable tasa de preñez cuando se transfieren embriones a receptoras que recibieron un tratamiento para sincronizar la ovulación sin la necesidad de detectar el celo. (Bó, Cutaia, & Baruselli, 2004)

Durante los últimos años el uso de nuevas tecnologías especialmente las relacionadas con reproducción animal tienen gran importancia en la producción agrícola del mundo; se estudia con mayor énfasis la receptora y su influencia sobre el porcentaje de preñez, relacionándola con una variedad de parámetros que deben ser evaluados en este tipo de hembras, como el factor racial, edad, estado fisiológico, estado sanitario, peso, nivel nutricional, condición corporal integridad del tracto reproductivo y manejo, también es importante palpar las estructuras ováricas presentes durante la sincronización del celo. De este modo, un óptimo desarrollo folicular será determinante para la formación de un cuerpo lúteo funcional que genere concentraciones plasmáticas de progesterona suficientes para dar un ambiente uterino adecuado y favorecer el desarrollo embrionario. (Thibier, 2003)

Por lo tanto las receptoras son una parte esencial del programa de TE, los resultados positivos representados en gestaciones y serán capaces de parir sin grandes dificultades con nacimientos de individuos provenientes de animales de alto valor



genético. (Alberio, 2002)

En este trabajo de investigación se determinó la tasa de preñez en hembras bovinas mestizas Charolais receptoras con diferente número de partos en programas de Transferencia de Embriones en los cantones de Palora, Huamboya, Pablo Sexto y Morona, de la Provincia de Morona Santiago.

Para este estudio se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general

- Determinar la tasa de preñez en receptoras con diferente número de partos, en programas de TE.

Objetivos específicos:

- Medir el tamaño del folículo preovulatorio, de los tres grupos de receptoras, por ultrasonografía, en el día 0 del celo.
- Evaluar el tamaño del cuerpo lúteo, en las tres categorías de receptoras por ultrasonografía a los 7 días post-ovulación.
- Establecer los niveles de progesterona plasmática, en el día 7 post-ovulación.
- Determinar la tasa de preñez a los 45 días post-transferencia del embrión.

Hipótesis

“La tasa de preñez de las receptoras en programas de transferencia de embriones, es diferente, según el número de partos y el tamaño del cuerpo lúteo, en el día siete después de la ovulación.”

CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 FASES DEL CICLO ESTRAL

A continuación se realizará una descripción de los principales acontecimientos del ciclo estral. El ciclo estral se puede dividir en tres fases:

- 1) Fase de proestro
- 2) Fase periovulatoria estro y metaestro
- 3) 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 destrucción del cuerpo lúteo y finalizará en la destrucción del cuerpo lúteo del próximo ciclo. (INTA, 2009)

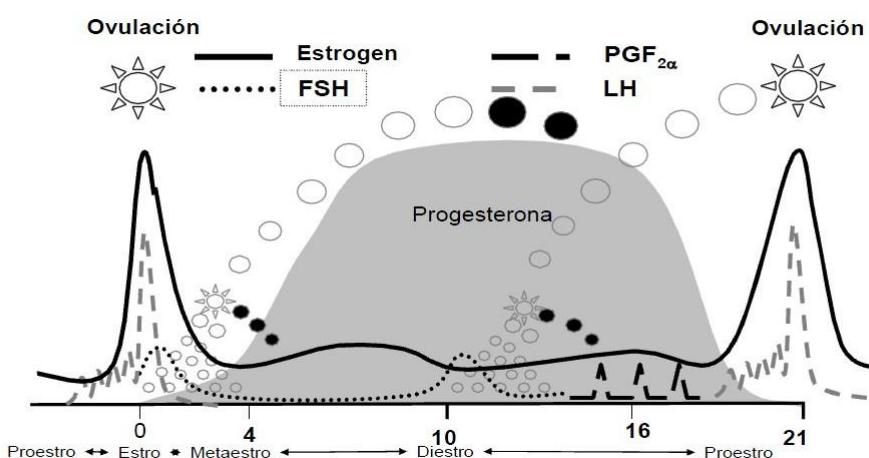


Figura 1. Esquema de las hormonas del ciclo estral
Fuente: (Rippe, 2009)

2.1.1 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. (INTA, 2009)

Como consecuencia de la caída de los niveles de progesterona, disminuye el feed back negativo que dicha hormona tenía a nivel hipotalámico y comienza a aumentar la frecuencia pulsátil de las hormonas gonadotróficas LH (Peters, 1985) y en menor magnitud de FSH estimulándose 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. (Coe & Allrich, 1989)

2.1.2 Fase periovulatoria (estro y metaestro)

El estro se define como un periodo de actividad y receptividad sexual en donde el signo principal es que el animal se mantiene en pie y quieto al ser montado por otro. También se observa, entre otros signos, inquietud, inflamación de la vulva, secreción de moco claro y transparente que sale por la vulva (Shearer, 2003): el olor del moco atrae y excita al toro debido a la presencia de feromonas. La duración de celo es muy variable entre grupos de animales variando entre 30 minutos a más de 30 horas (Lucy, 2006), pero se considera que 18 ± 6 horas es el tiempo promedio.

Los signos de estro ocurren gracias a la presencia de los estrógenos provenientes del folículo. En cierto momento los niveles de estrógenos son lo suficientemente altos en concentración y duración como para inducir los síntomas de celo o calor (Wiltbank, Güme, & Sartory, 2006), así como para incrementar las contracciones del tracto reproductivo facilitando el transporte del esperma y del ovulo; estos altos niveles de estrógenos afectan también a centros endocrinos en el hipotálamo que controlan la liberación de GnRH del hipotálamo y esta a su vez la liberación de FSH y LH de la adeno-hipófisis. El aumento de la LH se inicia luego de iniciados los signos de celo e inicia el proceso de ovulación (Lucy, 2006). La LH es generalmente considerada como la gonatropina primaria responsable de la ovulación, sin embargo, la FSH también ha sido observada como causante de ovulación y de formación de tejido luteal. (Lamb, Smith, Perry, Atkins, & Risley, 2009). Los niveles de FSH se incrementaran en amplitud unas horas después del pico de LH, relacionándose con el inicio de la primera oleada folicular (Figura 1). De 12 a 24 horas desde el comienzo del celo, el sistema nervioso central del animal se hace refractario a los estrógenos y todas las manifestaciones de celo desaparecen. Inmediatamente después de finalizado el celo se inicia el metaestro que puede durar de 3 a 5 días. Durante el metaestro ocurre la ovulación, que tiene lugar entre 28 a 32 horas después de haberse iniciado el celo, o entre 10 a 15 horas de haber cesado los signos de celo en respuesta al pico preovulatorio de LH. (Rippe, 2009)

Después de la ovulación se produce una hemorragia y el folículo se llena de sangre (Luque, Hutter, & Montes, 1983) convirtiéndose en una estructura conocida como cuerpo hemorrágico. El proceso siguiente es la luteinización de las células foliculares que se transformaran en células luteales; estos cambios ocurren entre el día 5 a 7 del ciclo, finalizando así la fase de metaestro e iniciándose la fase lútea o diestro (Figura 1).

Sin embargo diversos investigadores han informado que un aumento en los niveles ováricos de progesterona es un prerrequisito para que ocurra la ovulación (Pathwardham & Lanthier, 1976).

2.1.3 Fase Luteal o Diestro.

Esta fase se caracteriza por la presencia y dominio del cuerpo lúteo en el ovario y la producción de progesterona, y está regulada por las secreciones de la glándula pituitaria anterior, útero, ovario y la presencia de un embrión y va desde el día 5 del ciclo estral hasta el día 18. La regulación de la secreción de progesterona esta probablemente controlada por un equilibrio de estímulos: uno luteotrópico o que estimula la progesterona y otro luteolítico o que inhibe la progesterona; ambos estímulos son secretados al mismo tiempo durante el ciclo estral La LH que es considerada primariamente luteotrópica y la concentración de receptores luteales a la LH están directamente relacionados con los cambios en los niveles de progesterona y el crecimiento del cuerpo lúteo en el ovario. La FSH también interviene uniéndose a receptores en el cuerpo lúteo y provocaría un aumento en la secreción de progesterona. El cuerpo lúteo recibe la mayoría del flujo sanguíneo del ovario y la cantidad de flujo recibido está muy relacionado con la cantidad de progesterona producida y secretada. (Lamb, Smith, Perry, Atkins, & Risley, 2009)

Si la vaca no está preñada el cuerpo lúteo es inducido a degenerar por la acción de la PGF2 α . En este caso la ausencia de un embrión y de las señales químicas que el produce provoca que las concentraciones de PGF2 α se incrementen durante la parte final de la fase luteal o diestro Figura 1; día 16. La PGF2 α producida por el útero es transportada por la vena útero-ovárica a la arteria ovárica por un mecanismo llamado a contracorriente y de allí al cuerpo lúteo. La PGF2 α tiene una acción directa e indirecta causando la luteolisis o regresión del cuerpo lúteo en rumiantes (Lamb, Smith, Perry, Atkins, & Risley, 2009).

2.2 TRANSFERENCIA DE EMBRIONES BOVINOS.

El desarrollo de la transferencia de embriones fue paralelo al de la recolección. Cuando los embriones fueron recolectados 5-7 días después del estro por medio de cirugía y bajo anestesia general, las receptoras fueron preparadas para la transferencia bajo las mismas condiciones que las donantes.

En un esfuerzo por eliminar los problemas asociados con la anestesia general, sin alterar la eficacia de la recolección quirúrgica, algunos grupos cambiaron hacia el uso de la anestesia local. Esta variante fue aplicada inmediatamente a las receptoras. Su empleo exitoso permitió que se siga utilizando en la práctica. Los resultados obtenidos empleando la transferencia no quirúrgica se aproximan a los obtenidos con el método quirúrgico, razón por la cual esta última técnica tiene actualmente pocos usuarios.

(Palma & Brem, 1993)

La TE es una técnica que consiste en seleccionar una hembra donante, genéticamente superior, que se le sincroniza el estro por medio de tratamientos hormonales. Se induce una multiovulación con la ayuda de Gonadotropinas, la donante es capaz de producir varios folículos hasta el estado ovulatorio para obtener un mayor número de oocitos viables. (Duica, 2010)

Se considera que hubo respuesta al tratamiento cuando se producen más de dos ovulaciones efectivas (Tribulo, 2002) estos oocitos son fecundados por medio de la liberación de material seminal a nivel uterino, inseminación artificial (IA); en este proceso se pueden hacer dos o tres IA, según el protocolo de superovulación o multiovulación (Baruselli, de Sá Filho, Martins, & Bó, 2005)

Finalmente, los embriones son recuperados del útero el día 7 postinseminación, cuando aún no se han implantado a la superficie uterina (Gorlach, 1999)

Estas estructuras después de ser recuperadas pueden ser transplantadas a hembras receptoras, que reciben el embrión en fresco, las cuales van a servir como madres substitutas durante el período gestacional. El embrión también puede ser sometido a criopreservación para ser almacenado, previa selección según su estadio y calidad (Gordon, 1999). Las hembras que van a recibir un embrión en su útero deben estar en el mismo período fisiológico, postestro, que las hembras de las que se obtuvieron los embriones, por lo que se hace necesario controlar el ciclo estral de esta hembra receptora, para que se encuentre en el día siete postovulación; esta sincronía junto

con ciertas características sanitarias y de manejo, permiten efectuar el transplante del embrión a la hembra receptora (Gonzales, 2001)

2.2.1 Selección de la hembra donante

La selección adecuada de la hembra donante es de transcendental importancia ya que esta interviene directamente en los resultados obtenidos tras la aplicación de la técnica. Además de la superioridad genética en estas, se deben tener en cuenta factores como ciclos estráles regulares, precocidad reproductiva, dos o menos servicios por concepción en los años anteriores, comportamiento individual superior a la media del grupo en características de importancia productiva (peso al destete, al año y a los dieciocho meses), que produzca crías superiores a la media del hato, especialmente comparado con las hermanas de la hembra (descendientes del mismo toro), ningún problema al parto, ninguna irregularidad reproductiva, así como ningún defecto genético o de conformación detectable (Bó, Baruselli, Moreno, Cutaia, & Tribulo, 2002)

Se debe evitar el uso de animales obesos como donantes, ya que esta condición puede incidir directamente sobre la producción de los embriones.

Todos estos factores acompañados de un excelente manejo sanitario van a hacer que se obtengan óptimos resultados en el proceso de obtención de embriones.

Evitar el uso de animales obesos como donantes, ya que esta condición puede incidir directamente sobre la producción de los embriones (Palma, 2001)

Es necesario determinar qué tipo de enfermedades están presentes en la hembra, ya que los embriones, además de transportar una valiosa información genética, también pueden ser una importante fuente de diseminación de enfermedades reproductivas, tales como las producidas por el herpes virus bovino Tipo 1 (rinotraqueitis infecciosa bovina IBR), el virus de la diarrea viral bovina (DVB), Leucosis Viral Bovina, agentes bacterianos como *Brucella abortus*, *Campylobacter foetus* Subs. *Venerealis*, *leptospira interrogans* serovar *hardjo* y de otras bacterias como *Streptococo agalactiae*, *Actinomyces pyogenes* y *E. coli*, ya que el agente infeccioso va a estar presente en las células embrionarias o asociado con la zona pelúcida (Stingfellow, 2000). En los mamíferos, la zona pelúcida consiste en una matriz extracelular o “cubierta externa” que rodea a los ovocitos pre y ovulatórios, y a los embriones jóvenes hasta la fase de blastocisto cuando inicia la eclosión, que es cuando se fracciona esta área. Los embriones salen de zona pelúcida entre los ocho y los nueve días

de edad (Jimenez, 2005)

Verificar que a la hembra donante se le dé un período postparto mínimo de 60 días, para que se garantice una efectiva involución uterina y mostrar una buena ciclicidad reproductiva (Gonzales, 2001). Es de extrema importancia que no se encuentre con un ternero al pie, para evitar el estrés de la lactancia y cuidados del ternero, logrando así un mayor rendimiento de la madre en este proceso biotecnológico (Palma, 2001).

Tiene un valor importante en una superovulación exitosa, el desarrollo y el número de los folículos presentes a nivel ovárico al momento de la evaluación de la respuesta de la hembra donadora al tratamiento hormonal, por eso es de gran importancia hacer evaluaciones y seguimiento de los tamaños de las estructuras ováricas a lo largo de las diferentes etapas de la técnica de TE (Bó, Moreno, Cuaita, & Caccia, 2003).

La producción de embriones por las donantes y la transferencia a receptoras es el trabajo básico de la transferencia de embriones. El manejo de las donantes para maximizar la producción de embriones y el de las receptoras para tenerlas disponibles en el momento oportuno y para que tengan una buena fertilidad, forma parte de las tareas más importantes de la TE (Alberio, 2002)

El manejo de las donantes es uno de los puntos críticos. Si estas hembras no están reproductivamente bien y en un adecuado estado de balance nutricional el programa puede fracasar antes de haber comenzado.

El manejo de la donante debe comenzar antes de entrar en el programa y en esta etapa se deberá cumplir con el propietario para que comprenda y aprecie cómo debe ser manejada la vaca y cuál es su responsabilidad en ello. Si la vaca tiene un ternero al pie, es conveniente que el mismo sea destetado o dejado con una vaca ama. Esto es particularmente importante si la donante es trasladada a un Centro de transferencia. No sólo importa por la salud del ternero sino también para el mejor rendimiento de la madre a quien, además del estrés del cambio se suma el de la lactancia y cuidados del ternero.

Una alternativa de manejo cuando hay varias donantes con cría, es llevar a los terneros a mamar una o dos veces por día. Algunas razas requieren esto más que otras por lo que sus necesidades se establecerán en función del conocimiento que



se tenga de la misma. Las vacas primíparas o las vacas viejas representan un problema particular en estos casos. En general se debería disponer de una buena historia reproductiva de una donante antes de incluirla en un programa de TE. Muchos productores no hablarán fácilmente de sus vacas problema y un cuidadoso cuestionario permitirá detectar tales situaciones. Es frecuente escuchar por ejemplo "la vaca está seca porque el ternero murió de diarrea" o "que no ha parido este año porque fue preparada para una exposición". Lo que no se dice es que la muerte del ternero o la exposición han ocurrido dos o tres años antes y que luego de ese período la vaca no ha quedado nuevamente gestante. (Alberio, 2002)

Las hembras donantes deben ser incluidas en un programa de nutrición balanceada antes de efectuar el proceso de superovulación, donde se debe procurar administrar forrajes que brinden al animal los nutrientes necesarios para que se cumplan las funciones reproductivas, además de la incorporación de productos que proporcionen al animal adecuados niveles energéticos en la dieta así como suplementos vitamínicos y minerales. (Gomez, 2005)

2.2.2 Transferencia quirúrgica

En la primera transferencia quirúrgica con éxito en bovinos se practicó la cirugía bajo anestesia general, con el animal en posición decúbito dorsal y por la línea media. El cuerno uterino ipsilateral al ovario con cuerpo lúteo era presentado para ser punzado. (Willet ,Black, Casida, & Stone, 1951)

Una pipeta conteniendo el embrión era introducida a través del punto de punción y el embrión era expulsado en la luz uterina en un volumen mínimo de medio (0,2 ml), simplificaron la técnica quirúrgica transfiriendo los embriones a la receptora en pie y por el flanco. A fin de determinar a priori qué cuerno era el ipsilateral a la ovulación, se procedió a palpar previamente a las receptoras.

La elección del flanco a incidir lo determina el ovario ovulado. Esta laparotomía lateral es adoptada en la actualidad para una parte de las transferencias de embriones. La anestesia local puede ser complementada con una paravertebral (60 ml de Procaína 2% en plano). La transferencia es practicada a través del borde dorsal en el tercio anterior del cuerno. Los problemas de esta técnica lo constituyen: la dificultad de exteriorizar el cuerno uterino sin causar traumas en el tracto genital, especialmente en vaquillonas, vacas muy grandes y gordas (Elsden & Seidel, 1990.)



El embrión puede ser transferido con una pipeta Pasteur o pajuela plástica (0,25 - 0,50 ml). La sutura se hace según los métodos de rutina. La preñez con esta técnica varía entre 70-80%, con embriones frescos (Takeda, Hallowell, McCauley, & Hasler, 1986) y aproximadamente 10% menos con embriones congelados.

2.2.3 Transferencia no quirúrgica

Es la técnica de elección en la actualidad. La primera transferencia no quirúrgica con éxito en bovinos fue lograda por (Mutter, Graden, & Olds, 1964) atravesando la cérvix con una pipeta de inseminación. El éxito fue precedido, sin embargo, de muchos fracasos como consecuencia, aparentemente, de infecciones y contracciones uterinas provocadas en el intento. Los envases para los embriones y los instrumentos empleados en la transferencia son de diverso material y tamaño. En la actualidad los catéteres de transferencia están adaptados a las pajuelas de 0,25 ml (Foto 1), que sirven como envases para los embriones. Los catéteres son metálicos o de material plástico. El catéter metálico es de acero inoxidable (Foto 2), su punta atraumática posee un orificio lateral, por donde es expulsado el embrión.

El tubo del catéter está dividido en dos partes unidas a rosca, a fin de introducir la pajuela en su interior.

La rigidez de este catéter permite introducirlo más fácilmente a través de la cérvix de vaquillonas que los de plástico. Estos últimos son más finos que los metálicos, debido a su flexibilidad de elección para vacas multíparas, se presentan estériles y son descartables.

Al comienzo de la década del '80 se estableció como el lugar óptimo para la transferencia quirúrgica del embrión el tercio anterior del cuerno uterino (Newcomb, 1982) basado en que los embriones d7-8 se localizan en el útero a 5-6 cm de la unión útero-tubárica (Straberger, 1982).

Esto no es posible en la transferencia no quirúrgica con un catéter rígido, como consecuencia de la curvatura uterina (Newcomb, 1982). Trabajos posteriores no encontraron diferencias en el éxito de la transferencia comparando el tercio anterior con el medio y estimaron que el intento de transferir los embriones por delante del tercio medio con un catéter rígido podía conducir a traumatismos de la mucosa uterina con muerte embrionaria (Sreenan, & Diskin, 1987)). El lugar de elección para obtener



resultados aceptables es por delante del ligamento intercornual (Mitchell, West & Donaldson, 1984)

El procedimiento de la transferencia no quirúrgica tiene la desventaja frente al quirúrgico de requerir destreza, experiencia y particularmente mucho cuidado en la manipulación del catéter en el cuerno y el cuerpo del útero. El trauma provocado, especialmente en el endometrio, puede provocar la liberación de prostaglandinas. Estas pueden causar respuesta inflamatoria, disminución de los niveles de progesterona y aumento de la contractilidad uterina, que interfieren con la vida media del cuerpo lúteo y en consecuencia con la sobrevida del embrión. Con el aumento del tiempo de manipulación también se incrementa el efecto traumático de la transferencia, cuando la maniobra de transferencia dura más de 3 minutos (Gordon, 1976) o si es llevada a cabo con torpeza se provoca irritación del endometrio, que puede conducir a una disminución del éxito de la transferencia (Boland, Crosby, & Gordon, 1976). Tervit, Cooper, Goold, & Haszar en (1980) observaron que la preñez tendió a ser afectada linealmente por el tiempo necesario para la transferencia entre 0.7 a 6.3 minutos con un promedio de 1.8 minutos. La diferencia fue significativa ($p < 0,10$).

Varios autores sostienen que la cérvix no es susceptible a los efectos traumáticos (Chupin, 1988) es conveniente, sin embargo, no subestimar su insensibilidad con una brusca manipulación. Las lesiones pueden provocar la interrupción de la fase luteal con el acortamiento consiguiente del ciclo a menos de 16 días como consecuencia de la liberación de PGf2alfa (Tervit, Cooper, Goold, & Haszar, 1980). Un trauma mecánico puede provocar, además, ingreso bacteriano en la luz uterina, causando endometritis subclínica -favorecida por el nivel de progesterona de la fase diestral, que interfiere también con la vida del embrión. La receptora retorna al celo entre 24-39 días después de la transferencia.

Para evitar el efecto traumático de la manipulación sobre el endometrio se pusieron a prueba drogas para inducir la relajación de la musculatura lisa del útero (relajantes uterinos) y/o anestésicos locales. Los relajantes uterinos se emplearon por primera vez en la estación de inseminación artificial y transferencia de embriones de Neustadt a.d. Aisch, Alemania (Hahn, Schneider, Romanowski, & Roselius, 1975) y son empleados en la actualidad por algunos grupos de trabajo (Hahn, 1990). (Wenkoff) observó, en un ensayo realizado con 4796 receptoras, una disminución

del 10% de preñez cuando aplicó una dosis de 10 ml I.M. de Clenbuterol 60-90 minutos antes de la transferencia. Esa diferencia no fue significativa pero sí fue considerada como una tendencia importante (Wenkoff, 1986). Las posibles causas de la menor tasa de gestación fueron asociadas a la dilatación de la vagina y recto como consecuencia del ingreso de aire y la distención de la vejiga con orina, que dificultaron los procedimientos de la transferencia. Ello estaría apoyado por el efecto positivo del tratamiento, aplicado 30-180 minutos previo a la transferencia quirúrgica. (Mapletoft, Lindsell, & Pawlyshyn, 1986). En la actualidad se aplica el relajante uterino aproximadamente 5 minutos antes de la transferencia a fin de evitar dichos efectos negativos. Sin embargo ese tiempo es reducido para que la droga tenga efecto. (Leiding, 1991)

El componente psicológico de éxito o fracaso establece una presión considerable sobre el operador principiante y en consecuencia puede actuar negativamente sobre las posibilidades de éxito. Una medida preventiva es realizar las transferencias sólo si existen buenas condiciones para ello. Particularmente tranquilidad de los animales (uso de tranquilizantes si fuera necesario) y una buena anestesia epidural. Estas medidas son más importantes si se trabaja con animales nerviosos y/o indóciles. (Palma & Brem, 1993).

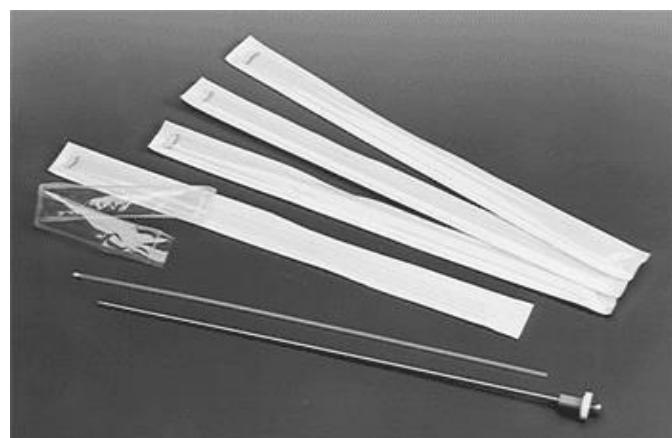


Figura 2. Quicklock® ET de acero inoxidable, soporte de las vainas.

Fuente: (Bó, 2013)

2.2.4 Implementación de un programa genómico para la identificación de donantes.

Principales pasos para implementar un programa genómico con énfasis en selección de donantes para producción de embriones.

Paso N°1: Es necesaria una clara definición de:

- ¿Por qué vamos a iniciar un programa genómico?
- ¿Qué estrategias de selección o manejo serán aplicadas con los resultados genómicos?
- ¿Qué grupo de animales testear? y
- ¿Qué criterios de selección serán utilizados para clasificar los animales y seleccionar las donantes?

Paso N°2: Definir qué tipo de muestra de ADN tomar. Se puede obtener ADN de muestras de pelo, sangre, tejido, y semen. De cualquiera de estas muestras se puede obtener buena calidad de ADN y la elección del método o la muestra dependerá del método que mejor se ajuste al establecimiento o Veterinario.

Paso N°3: Consiste en la revisión de los resultados genómicos y en la aplicación de las estrategias definidas en el paso 1. Una vez que recibimos los resultados genómicos simplemente tenemos que clasificar y ordenar los animales testeados.

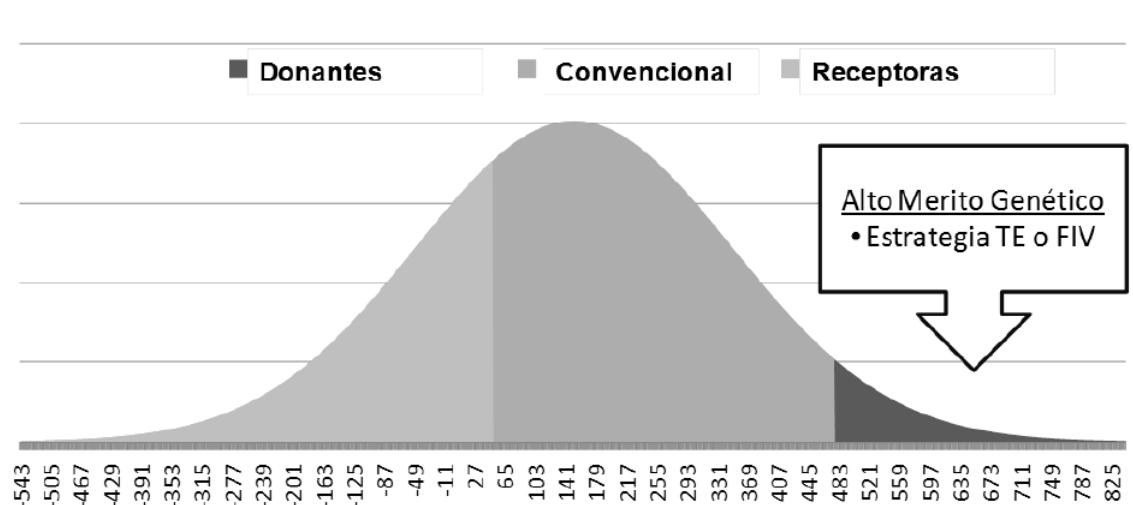


Figura 3. Predicción Genética para Merito Neto Vitalicio.

Fuente: (Bó, 2013)

La respuesta a la selección de esta estrategia es básicamente inducida por la proporción de animales que usamos como donantes y el número de terneras que obtenemos por cada donante. Esta estrategia aumenta el mérito genético de la próxima generación de vaquillonas o remplazos ya que una gran proporción de los remplazos serán hijas del mejor 10% de la población bajo selección.

Las de bajo mérito genético serán para usarlas como receptoras, estamos evitando que estas vaquillonas contribuyan hijas de bajo mérito genético para la próxima generación de remplazos y que genes indeseables sean transferidos a futuras generaciones.

La Tabla 1 muestra la respuesta a la selección de acuerdo al porcentaje de donantes utilizadas (1, 3, o 5%) y al número de terneras nacidas por donante (5, 10, 15 terneras). La respuesta a la selección en la Tabla 1 expresa el aumento en el mérito neto promedio del índice de Mérito Neto Vitalicio (HTP expresado en Dólares) en comparación con el progreso genético esperado donde todas las vaquillonas son inseminadas con semen convencional. Para este modelo y población hipotética los valores promedios asumidos de Mérito Neto Vitalicio (HTP expresado en Dólares) fueron de \$150, \$800 y \$460 para el grupo de vaquillonas bajo selección, el grupo de toros usados para transferencia o fertilización in vitro, y para los toros de servicio convencional, respectivamente.

Tabla 1. Respuesta a la selección de acuerdo al porcentaje de donantes utilizadas.

Porcentaje de Donantes utilizadas	1%	1%	1%	3%	3%	3%	5%	5%	5%
Merito Neto promedio de la donante (NM\$)	672	672	672	597	597	597	557	557	557
Numero de Terneras Nacidos por Donante	5	10	15	5	10	15	5	10	15
Aumento en el Merito Neto promedio (NM\$) [†]	48	88	125	119	202	266	172	273	340

Fuente: (Bó, 2013)

La complementación de programas de producción y transferencia de embriones con la tecnología genómica aplicada al mejoramiento animal ofrecen una gran oportunidad para maximizar el progreso genético y la rentabilidad de las empresas ganaderas. El uso eficiente de estas tecnologías impacta tanto en la reducción del

intervalo generacional como en la confiabilidad y la precisión de las decisiones de identificación de donantes y receptoras lo cual es directamente traducido en un aumento de la tasa de ganancia genética. La habilidad de un productor o asesor en identificar e implementar exitosamente estas tecnologías tendrá un gran impacto en la competitividad del establecimiento y en la posibilidad de mantenernos en el negocio evitando ineficiencias que pueden amenazar la viabilidad de la empresa ganadera. (Bó, 2013)

2.3 FACTORES QUE AFECTAN LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA DE LA RECEPTORA EN UN PROGRAMA DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.

La raza de los animales a utilizar, selección de la hembra donante así como de la hembra receptora, manejo de las hembras, respuesta de los animales a los tratamientos de sincronización, técnica para realizar la TE, día en que se efectúe la transferencia del embrión, calidad del embrión, respuesta de la receptora al embrión transplantado, interacción embrión-hembra han sido estudiados tratando de estandarizarlos para obtener mejores resultados; pero sin duda uno de los factores más importantes en la obtención de resultados positivos, representados en preñeces y nacimientos, es la óptima selección de la hembra que va a recibir un embrión en su útero, dispone de tal manera que pueda brindarle unas condiciones adecuadas que permitan la supervivencia, implantación y desarrollo de éste (Spell, Beal, Corah, & Lamb, 2001). Por este motivo, es de suma importancia conocer los cambios que transcurren durante el ciclo estral y en las primeras fases del desarrollo embrionario, para así poder determinar claramente los factores que van a incidir de una manera directa sobre la eficiencia en un programa de TE. (Bó, Moreno, Cuaita, & Caccia, 2003)

2.3.1 Selección de hembras receptoras.

En el éxito de un programa de TE influyen muchos factores, pero tal vez uno de los más importantes es la selección de las hembras receptoras; estas deben ser saludables y reproductivamente sanas (Huertas & Huertas, 1991) verificando la presencia de estructuras ováricas. El objeto de la exploración y valoración es rechazar animales con anormalidades como: órganos sexuales juveniles, hermafroditismo,

ninfomanía, endometritis, entre otros, que no tenga ninguna alteración ni deformidad a nivel de cuello uterino. Además que sean serológicamente negativas a las enfermedades infectocontagiosas que afecten las características reproductivas de estos animales. Si se utilizan hembras en período de postparto, estas deben presentar un útero libre de infecciones, debe haber pasado por lo menos tres meses de haber ocurrido su último parto y no estar en etapa de amamantamiento a la cría. Además de tener un comportamiento estral cíclico y no presentar sobrepeso (Hafez, 2000)

2.3.2 Manejo de receptoras

Así mismo debe llevarse a cabo un excelente programa de detección de calores, contar con un personal capacitado para el manejo de los animales y contar con unas buenas instalaciones para realizar un manejo adecuado de las hembras. (Gomez, 2005)

Las receptoras forman una parte esencial del programa de TE y también uno de los problemas más serios. Las buenas receptoras son caras, su mantenimiento costoso y su estado de salud es crítico para el éxito de la TE.

Desde el punto de vista reproductivo una buena receptora es la hembra capaz de recibir un embrión y llevarlo a término.

El tamaño de la receptora dependerá del tipo de animal (embrión) que se transferirá. De acuerdo con las tendencias actuales, particularmente en las razas para carne, se busca un gran tamaño de ternero con pesos al nacimiento de 40 o 50 kg y aún más. Por lo tanto, no se deben tener dudas de elegir hembras de gran tamaño. (Alberio, 2002).

Uno de los grandes inconvenientes que se presentan en los programas de transferencias de embriones es el manejo de las receptoras (Bó , Caccia , Martinez , & Mapletoft , 1996)

La edad de la receptora es un aspecto importante en el cual sin embargo, no hay coincidencias entre autores. En general se difiere en el criterio sí es mejor una vaquillona que una vaca que ya ha parido alguna vez. Una forma de tomar el problema que puede resumir las diferentes posiciones es la siguiente: la vaquillona permite obtener tasas de preñez ligeramente superiores, sin embargo los problemas de manejo durante la gestación, el parto y la lactancia pueden producir resultados finales inferiores a los de las vacas. El uso de vacas multíparas, con historia reproductiva



conocida, que garantiza en cierta manera su comportamiento futuro, sumado al hecho de tener menos problemas de parto, hace que éste sea finalmente el animal de elección. (Alberio, 2002)

Estas pueden ser seleccionadas por un programa de detección de celos naturales o de celos inducidos mediante tratamientos hormonales. Independientemente del método utilizado, es importante tener una buena precisión en la detección de los celos, debido a que este aparece como un factor clave y uno de los que más afecta el costo de manutención de una receptora desde que entra al programa hasta que queda preñada (Beal & Hinshaw, 2001).

De acuerdo con nuestra experiencia bajo condiciones extensivas los resultados con vacas jóvenes (primera y segunda parición) han sido superiores a los obtenidos con vaquillonas y los problemas de parto en las primeras son casi inexistentes.

El manejo de alimentación de las receptoras es vital en el éxito final de la transferencia. La hembra gestará y amamantará a los terneros de mayor valor del establecimiento. Criará terneros que son mayores a los que hubiera producido y deberá proveer nutrientes en forma suficiente para que se exprese el potencial genético del ternero. Ante estas consideraciones, la receptora preñada no debe ser tratada como cualquier otra vaca de cría sino, al menos, como lo son las donantes.

Lo ideal es obtener receptoras del propio establecimiento con el consiguiente conocimiento de su historia reproductiva. Estas vacas serán a su vez portadoras de inmunidad a las bacterias y virus locales y la pasarán a sus crías. Su stress será menor al haber sido criadas en el lugar. En general las tasas de preñez que se obtienen en este tipo de receptoras suele superar en 10 a 15% a las obtenidas en animales recientemente incorporados. (Alberio, 2002)

El éxito de cualquier programa de transferencia de embriones está condicionado por una sumatoria de factores, dentro de los cuales las receptoras juegan un papel trascendente tanto en el resultado físico del porcentaje de preñez logrado como el resultado económico final del programa. (Tríbulo & Cutaia, 2001)

Cada receptora podrá tener tres oportunidades "buenas" de quedar gestante. Esto significa haber sido transferida correctamente con un buen embrión. Las tasas de gestación en la primera y segunda transferencia son similares y disminuyen en la tercera oportunidad. Luego de esto la caída es alta y no justifica el mantenimiento de esta vaca. La tasa de abortos en las receptoras preñadas puede ser ligeramente



superior a la de vacas servidas normalmente. Por ello nunca se deberá entregar una receptora sin verificar previamente su estado de gestación.

En síntesis, el manejo de las receptoras incluye la elección de hembras de buena calidad que sean reproductivamente aptas, que tengan un buen nivel de alimentación y estén libres de enfermedades.

Los sistemas para conseguirlas son tan variados como oportunidades aparezcan. No olvidar que las receptoras constituyen uno de los puntos clave de la TE exitosa y por ello deberán ser tratadas en consecuencia. (Alberio, 2002)

2.3.3 Evaluación de las estructuras ováricas de la hembra receptora.

Por medio de ultrasonografía trans-rectal, se ha podido determinar que la estructura del folículo preovulatorio afecta de manera directa el subsecuente tamaño del cuerpo lúteo, Al haber una mayor producción de progesterona plasmática se esperaría generar unas condiciones uterinas más favorables para el desarrollo embrionario temprano. Por eso es importante determinar el tamaño de las estructuras ováricas antes de realizar la transferencia del embrión a la hembra receptora, lo cual permite la obtención de mejores resultados después de la aplicación de la técnica de TE (Duica, Tovío, & Grajales , 2007). Kastelic en un estudio realizado en 1990 reporta que el tejido luteal y los niveles plasmáticos de progesterona están altamente correlacionados, afirmando que el análisis del tamaño del cuerpo lúteo es una herramienta viable para predecir las concentraciones en sangre de progesterona. (Baruselli, 2001) en estudios realizados reportó que al realizar ultrasonografía ovárica a un grupo de 140 animales, los cuerpos lúteos de más de 2 cm de diámetro produjeron niveles de progesterona circulantes de 2.44 ng/ml, y una tasa de concepción del 58% en hembras a las que se le trasplantó un embrión el día siete post-estro; las hembras en las que se evidenciaron cuerpos lúteos de 1.55 cm de diámetro produjeron niveles de progesterona circulantes de 1.75 ng/ml, y tuvieron una tasa de concepción del 41%; mientras que en las hembras que presentaron cuerpos lúteos menores de 1.5 cm de diámetro se evidenciaron niveles de progesterona circulantes de 1.19 ng/ml, y tuvieron una tasa de concepción del 31% ($P < 0.05$) (Baruselli, 2001). Mientras que al encontrar un cuerpo lúteo de 2,36 cm de diámetro se detectó una concentración plasmática de progesterona equivalente a 4,2 ng/mL y una tasa de preñez del 70%, en hembras receptoras de embriones a las

que se les fue transferido el embrión el día siete postcelo ($P < 0,05$). (Spell, Beal, Corah, & Lamb, 2001)

2.3.4 Edad de las receptoras.

En la Tabla 2 se analiza el efecto de la edad de las receptoras sobre el índice de preñez. Las vaquillonas tienen ventajas debido a que consumen menos alimento, tienen mejor respuesta a la sincronización con PG y se obtiene un índice de preñez 5% superior a las vacas. Las desventajas con respecto a las vacas consisten en mayores problemas durante el parto, menor producción de leche durante su primera lactancia y un período de recuperación puerperal más prolongado. (Munar, Mujica, Martin, Irouleguy, & Huter, 2013)

Tabla 2. Efecto de la edad de la receptora sobre el índice de preñez de TE

Edad	Transferencias	Preñadas	(%)
Vaquillonas	2689	1887	70.2
Vacas	2380	1566	65.8

Fuente: (Munar, Mujica, Martin, Irouleguy, & Huter, 2013)

2.3.5 Sincronización de receptoras.

Hay una continua necesidad de simplificar los protocolos de transferencia de embriones bovinos. La incorporación de tratamientos que controlan la dinámica folicular y la ovulación reducen el problema de la detección de celos y ofrecen posibilidades para la aplicación de la transferencia de embriones a tiempo fijo. (Bó, 2013)

Las tasas de concepción varían entre un 40 a 70% dependiendo del uso de embriones frescos o congelados (Stroud & Hasler , 2006)

Uno de los factores que ha impedido la utilización masiva de la técnica de transferencia de embriones es la detección de celos, principalmente en el ganado



Bos indicus. El desarrollo de protocolos efectivos de sincronización de la ovulación para evitar la detección de celos en programas de inseminación artificial (IA), conocidos como programas de IA a Tiempo Fijo (IATF), ha permitido la inseminación masiva de vacas y vaquillonas. Esto ha traído como consecuencia el desarrollo de métodos de sincronización de la ovulación para facilitar la transferencia de embriones en forma sistemática, o también llamada transferencia embrionaria a tiempo fijo (Bó, Baruselli, Moreno, Cutaia, & Tribulo, 2002).

2.3.6 Factores que afectan la preñez en programas de transferencia de embriones.

Se realizó un experimento para evaluar la influencia de distintos factores del proceso de descongelado y transferencia de embriones bovinos (diferentes del tratamiento de sincronización) sobre el establecimiento de la preñez en receptoras de embriones transferidas a tiempo fijo. Todos los embriones de la raza Bonsmara fueron congelados en etilenglicol 1.5 M y fueron procesados por el mismo grupo de trabajo (Embryo Plus, Britts, Sudáfrica). Las variables explicativas consideradas en el análisis fueron: estado de desarrollo y calidad del embrión en el momento de congelado (clasificados según las normas de la IETS), condición corporal de la receptora (1 = flaca a 5 = gorda), historia de fertilidad de la receptora (vacía en una transferencia de embriones anterior o vaca utilizada por primera vez sin antecedentes de fertilidad previa), presencia o ausencia de celo detectado entre los Días 8 a 14 del tratamiento, operador que transfirió el embrión, lugar de descarga del embrión en el cuerno uterino (alto, en el tercio anterior o proximal al ovario; medio, en el tercio medio del cuerno; y bajo, en tercio posterior o distal al cuerno uterino), calificación de la transferencia por el operador en tres niveles: bueno, regular o malo). Un factor de especial interés fue el tiempo transcurrido desde que se descongeló el embrión hasta que el embrión fue depositado en el cuerno uterino, que fue tomado como un indicativo del posible efecto de toxicidad del etilenglicol. Estos se clasificaron en 3 períodos: hasta 3 minutos, desde 3,1 hasta 6 minutos y más de 6 minutos. (Bó, 2013)

Tabla 3. Factores que afectan la tasa de concepción en receptoras transferidas en tiempo fijo.

Variables	Tasa concepción	Valor P	Porcentaje (%)
Celo			
Vistas celo	517/924		56,0
No vistas celo	219/409		54,0
Total	1333	0,36	55,2
Tamaño CL			
≥14≤16	128/228		56,1
>16≤18	208/369		56,4
>18	400/736		54,3
Total	1333	0,94	55,2
Numero CL			
1	673/1220		55,2
2	53/99		53,5
3	10/14		71,4
Total	1333	0,38	55,2
Lugar TE			
Alta	246/442		56,0
Media	482/872		55,3
Baja	8/22		38,1
Total	1333	0,23	55,2
Estadio del embrión			
Mórula	259/468		55,4
Blastocisto temprano	275/463		59,4
Blastocisto	179/344		52,0
Blastocisto expandido	23/58		39,7
Total	1333	0,004	55,2
Calidad del embrión			
1	693/1235		56,11
2	32/65		49,23
3	11/33		33,33
Total	1333	0,01	55,2
Calificación TE			
Buena	691/1262		54,8
Regular	37/58		63,8
Mala	8/13		61,5
Total	1333	0,36	55,2
Operador			
A	313/542		57,8
B	423/791		53,5
Total	1333	0,33	55,2

Fuente: (Bó, 2013)

Las variables condición corporal, animales vistos o no en celo, lugar de deposición del embrión, clasificación de la transferencia, área del CL, estación del año, tiempo de desde la descongelación a la transferencia y operador no afectaron las tasas de concepción ($P>0,1$). Sin embargo, hubo efecto significativo ($P<0,05$) de la variable historia reproductiva, estadio y calidad del embrión (Tabla 4). Las receptoras que

fueron vacías a una TETF previa tuvieron una reducción de 7 % de la tasa de concepción comparadas con las receptoras que fueron utilizadas por primera vez o sin historia reproductiva (Tabla 4).

Tabla 4. Factores que afectan la tasa de concepción en receptoras transferidas en tiempo fijo. Efecto de la historia reproductiva de la receptora, estación del año y tiempo transcurrido desde la congelación del embrión hasta la TEFT.

Variables	Tasa Concepción	Valor P	Porcentaje (%)
Historia Reproductiva			
Vacía en una TE anterior	116/231		50,2
Vacas utilizadas primera vez	347/606	0,02	57,3
Total	837		55,3
Estación Año			
Otoño	310/562		55,2
Primavera	33/69	0,29	47,8
Verano	393/702		56,0
Total	1333		55,2
Tiempo desde la descongelación a la TETF			
≤180 segundos	251/385		55,84
>180≤360 segundo	372/655	0,42	56,79
>360 segundos	42/82		51,22
Total	1122		55,2

Fuente: (Bó, 2013)

Las variables que afectaron significativamente la tasa de concepción fueron: estadio y calidad del embrión. La tasa de concepción fue mayor para los blastocitos tempranos que para los blastocitos completos y los blastocitos expandidos. Los embriones tienen entre 6,5 a 7,5 días de desarrollo cuando se colectan, lo que corresponde a embriones en estadio de mórula compacta a blastocisto. Distintos trabajos han evaluado la preñez según el estadio de desarrollo del embrión. En un trabajo se evaluó la transferencia de 5287 embriones criopreservados en glicerol y no hubo diferencias de preñez entre mórulas, blastocitos tempranos, blastocitos o blastocitos expandidos (Hasler, 2001)

2.4 SINCRONIZACION DE CELOS ENTRE RECEPTORAS Y DONANTES.

La sincronización de celos y TE solamente son posibles de aplicar en vientres donantes y receptoras vacías normales con síntomas y signos de actividad ovárica, en buenas condiciones corporales y con un balance energético positivo en la alimentación, que se traduce en ganancia de peso y mejoramiento del estado general. El aparato reproductor femenino presenta un conjunto de cambios rítmicos anatómicos y funcionales que integran el ciclo estral. Estos cambios se producen por efecto de las hormonas producidas por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario y útero. Estas hormonas, además de iniciar el período de receptividad sexual durante el estro o celo, preparan el aparato genital para cumplir con la función de transporte y capacitación del esperma, la maduración folicular y ovulación, la fertilización y el mantenimiento con éxito de la concepción, el desarrollo embrionario y fetal hasta el parto. Un embrión de 7 días de edad, en estadio de mórula o blastocisto, debe ser transferido a un útero que esté bajo la influencia hormonal y en un estado fisiológico, motilidad y secreciones, correspondiente a siete días del ciclo estral, con más o menos 24 horas de diferencia (Munar, Mujica, Martin, Irouleguy, & Huter, 2013)

2.4.1 Programas de sincronización de celos de receptoras de embriones bovinos.

Hay una continua necesidad de simplificar los protocolos de transferencia de embriones bovinos. La incorporación de tratamientos que controlan la dinámica folicular y la ovulación reducen el problema de la detección de celos y ofrecen posibilidades para la aplicación de la transferencia de embriones a tiempo fijo (TETF). (Bó, 2013)

Básicamente aplicamos cinco esquemas de sincronización de celos y de la ovulación de receptoras, para cada uno se recomienda lo siguiente:

Prostaglandina:

Dos dosis de prostaglandina con 11 a 14 días de intervalo. Con control de celos entre las 48 y 120 horas después de la última aplicación. Hacer transferencias únicamente en receptoras con celo detectado que presentan un cuerpo lúteo ovárico correspondiente al estadio del ciclo estral entre los días 6 y 8,5.

Ovsynch-P: sin control de celos



Día 0 =GnRH e implante auricular CRESTAR (Norgestomet, progestágeno);

Día 7 = Prostaglandina y retirar el implante auricular;

Día 9 = GnRH;

Día 9= celo

Día 10 = ovulación;

Día 16 (día 15 a 17) = transferencias únicamente en receptoras con cuerpo lúteo ovárico correspondiente al estadio del ciclo estral entre los días 6 y 8,5.

TETF CON GnRH (SIN ESTRADIOL)

Día 0 = DIB-in (dispositivo intravaginal de progesterona)+GnRH 2 cc (100 ug de Buserelina o Cistorelina);

Día 6 = retirar DIB + Novormon ECG 400 IU + Prostaglandina

Doble dosis AM y PM

Día 8 = celo + GnRH 2 cc (100 ug de Buserelina o Cistorelina);

Día 15 (día 14 a 16) = transferencias únicamente en receptoras con cuerpo lúteo ovárico correspondiente al estadio del ciclo estral entre los días 6 y 8,5.

TETF-2 CON ESTRADIOL

Dos días de tratamiento, sin control de celos, las transferencias se efectúan a tiempo fijo.

Día 0 = DIB-in (dispositivo intravaginal de progesterona)+ Estradiol Benzoato 2 cc (2 mg);

Día 8 = retirar DIB + Novormon 2 cc (400IU)+ Prostaglandina + ECP 0,5 cc (0,5 mg);

Día 10 = celo y día 11 = ovulación

Día 17 (16 a 18) = transferencias únicamente en receptoras con cuerpo lúteo ovárico correspondiente al estadio del ciclo estral entre los días 6 y 8,5.

TETF-3 CON ESTRADIOL

Tres días de tratamiento, sin control de celos, las transferencias se efectúan a tiempo fijos.

Día 0 = DIB (dispositivo intravaginal de progesterona de 1 g)+

Estradiol Benzoato 2 cc (2 mg);



Día 8 = retirar DIB + Prostaglandina

Día 9 = Inyectar Estradiol Benzoato 1 cc (1mg)

Día 10 = celo y día 11 = ovulación

Día 17 (16 a 18) = transferencias únicamente en receptoras con cuerpo lúteo ovárico correspondiente al estadio del ciclo estral entre los días 6 y 8,5.

OVSYNCH-P (Sincronización de las ovulaciones con GnRH y progestágenos)

La sincronización de la ovulación de vacas en lactancia con Ovsynch-P. La GnRH se puede utilizar para inducir la ovulación o luteinización del folículo dominante y el inicio de una nueva onda e maduración folicular 1,6 días después de la inyección.

Siete días más tarde se inyecta PG para inducir la regresión del CL y el celo, cuando el ovario presenta un folículo dominante en fase de desarrollo. Para sincronizar la ovulación entre vacas, 30 a 48 horas después de la PG se inyectan nuevamente con GnRH, de manera tal que el 95% de las vacas ovulará entre las 72 y 84 hs desde la PG.

Este esquema con CRESTAR se puede utilizar para sincronizar vacas y vaquillonas, sin detección de celos y permite el aprovechamiento de >90% de los vientres tratados que presentan CL en el momento de la TE. (Munar, Mujica, Martín, Irouleguy, & Huter, 2013)

TETF (Transferencia Embrionaria a tiempo fijo) CON ESTRADIOOL.

Consiste en la sincronización de la ovulación con el uso combinado de dispositivos intravaginales de progesterona (DIV de Merial, DIV-B de SYNTEX; o CIDR de Easy Breed), Benzoato de estradiol (BE), gonadotrofinas FSH: LH (PMSG - eCG gonadotropina coriónica equina- Novormon SYNTEX; o bien Folligon de Intervet) y prostaglandinas. Este tratamiento está indicado en todas las categorías de receptoras, vaquillonas, vacas secas y en lactancia ciclando normalmente, así como en vacas post parto aunque en anestro siempre que estén en buena condición corporal y balance energético positivo. El tratamiento se inicia en cualquier momento del ciclo con la inyección de Benzoato de Estradiol 2cc (BE) y la colocación de un dispositivo intravaginal de liberación lenta de progesterona. Recomendamos extremas medidas de higiene durante la aplicación de los dispositivos. Los estrógenos (BE) inducen la descarga de LH y la atresia del folículo dominante, cuando se administran asociados con progesterona, induciendo una nueva onda de

maduración folicular 3-4 días después. Al octavo día de tratamiento se retiran los dispositivos intravaginales y se inyectan con Prostaglandinas 2cc para inducir la lisis del cuerpo lúteo, y Novormon 2 cc (400 IU de eCG) para inducir un proestro estimulando la maduración folicular; y ECP 0,5 cc (cipionato de estradiol, 0,5 mg) o el Benzoato de Estradiol 1 cc (1mg) después de retirado el DIV para sincronizar la ovulación del folículo dominante, a través de la liberación y por efecto de la LH. El celo aparecerá en la mayoría de los animales tratados 48 horas después de la PG y la ovulación ocurrirá entre las 72 y 84 horas. Siete días después (entre 6 y 8 días) del celo esperado, se podrán transferir embriones en aquellas receptoras que tengan CL correspondientes a la etapa del ciclo. Las receptoras que no poseen CL no son transferidas. El protocolo TETF es el actualmente recomendado porque, por un lado, facilita las labores de campo ya que podemos prescindir de la detección de celos; y por el otro, aprovechamos entre el 70 y 80% de las receptoras tratadas. (Munar, Mujica, Martin, Irouleguy, & Huter, 2013)

Para la elección y aplicación de tratamientos para sincronizar el estro y la ovulación es absolutamente necesario conocer con precisión los eventos endocrinos que regulan el ciclo estral y los factores que pueden sincronizar su respuesta. El tratamiento a elegir para sincronizar el estro debe tener en cuenta la categoría y la raza de las vacas receptoras fundamentalmente. En cuanto a la categoría las hembras en periodo postpartal o en fase peripuberal, serían las menos recomendables por su menor fertilidad en relación a las púberes o vacas secas. Los indicios de que la transferencia de embriones puede ser llevado a cabo con éxito, sin detectar los celos en las receptoras, abren un camino que facilitaría la aplicación de estas tecnologías para determinados tipos de embriones. (Alberio, 2009).

2.5 INSTALACIONES PARA LA COLECCIÓN, LAVADO Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.

En casi todos los procesos de TE se los realiza en granja y a campo abierto, se debe evitar que la hembra tanto la donante como la receptora sufran estrés, para esto se las mantendrán junto a su grupo en la granja.

Con el objeto de lograr un óptimo lugar de trabajo se deben tomar en cuenta las siguientes recomendaciones:



- Contar con un área cerrada sin luz solar y libre de contaminación con polvo o alimentos
- Que sean pisos sólidos de preferencia de cemento, madera firme con buenos drenajes.
- Debe de contar con instalaciones eléctricas o disponer de generador eléctrico.
- Disponer de agua limpia.
- Lo ideal sería de disponer áreas o lugares que mantengan una temperatura ambiente entre 20 y 25 oC
- Área de mangas de conducción y sujeción fuertes, firmes en lo posible que vaya a una sola dirección.

2.6 DINÁMICA DEL DESARROLLO FOLICULAR OVÁRICO DURANTE EL CICLO ESTRAL EN EL BOVINO.

Con base en estudios histológicos de los ovarios, fue propuesto en 1960 que dos ondas de crecimiento folicular ocurrían durante el ciclo estral bovino (Rajakoski, 1960). A través de la medición de folículos y cuantificación de hormonas esteroideas en sangre y líquido folicular, (Ireland & Roche) concluyeron que había tres ondas de crecimiento folicular durante el ciclo estral, y que cada onda resultó en la formación de un folículo dominante. En 1984, (Pierson & Ginther), caracterizaron la foliculogénesis ovárica bovina, para folículos antrales (≥ 3 mm) usando mediciones diarias hechas por ultrasonido y concluyeron que las novillas tenían ciclos estrales con dos ondas foliculares. Sin embargo, (Fortune, Sirois, & Quirk, 1988) reportaron tres ondas de desarrollo folicular durante el ciclo estral.

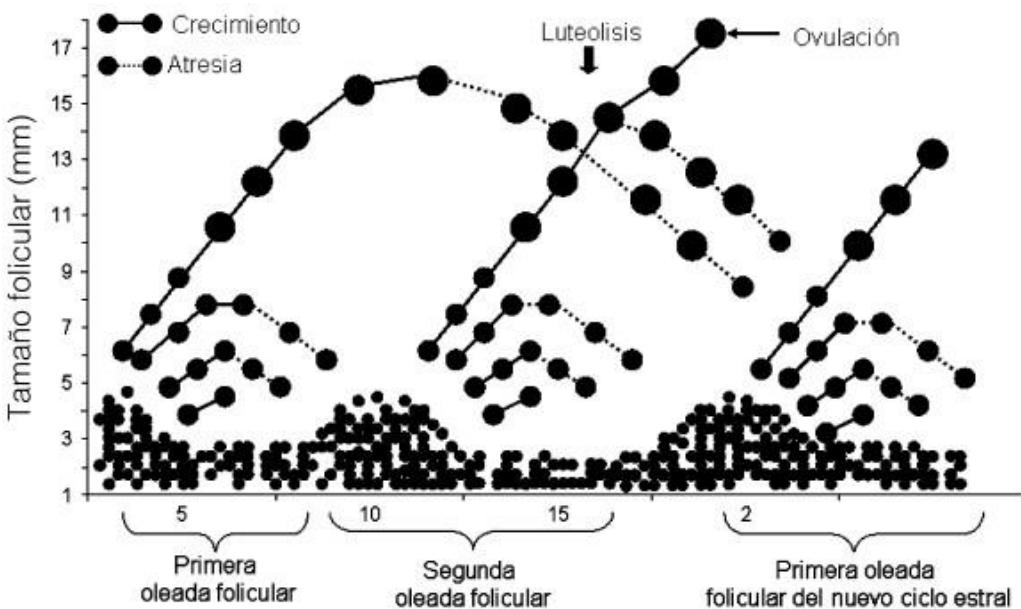


Figura 4. Representación esquemática de la dinámica folicular en bovinos
Fuente: (Bó, 2013)

2.6.1 Dinámica folicular ovárica durante el ciclo estral en bovinos

Cada onda folicular se caracteriza por la emergencia simultánea de un grupo de 5 a 7 folículos (> 5 mm de diámetro) del grupo de folículos pequeños presentes en los ovarios. Uno de estos folículos emerge rápidamente y se hace más grande que los otros folículos dentro de la misma cohorte y se considera el «folículo dominante» (Fortune, 1993), mientras que los otros folículos se hacen atrésicos y sufren regresión. El folículo dominante alcanza un diámetro máximo de 10 a 15 mm y permanece dominante por un período de 5 a 7 días, hasta que se hace atrésico y disminuye en tamaño. El folículo dominante en regresión es reemplazado por un nuevo folículo dominante que creció de la siguiente onda de folículos. Si la regresión luteal ocurre durante la fase de crecimiento o inicios del período de dominancia, entonces el folículo dominante, libre del ambiente hormonal inhibidor impuesto por la P4 secretada por el cuerpo lúteo, continuará hasta alcanzar tamaño preovulatorio y estimulará los eventos que conllevan a la ovulación (Webb, Gong, Law, & Rusbridge, 1992).

La dinámica folicular puede definirse como el proceso continuo de crecimiento y regresión de folículos antrales que conlleva al desarrollo del folículo preovulatorio (Lucy, Savio, Badinga, De la Sota, & Thatcher, 1992). (Ireland & Roche) Sugirieron

en 1987 que la regresión de los folículos dominantes durante el ciclo estral está regulada por la diferencia en la respuesta de folículos, seleccionados o no seleccionados, dentro de la cohorte, a las alteraciones en los patrones de secreción de las gonadotrofinas, lo que resulta en una producción diferencial de factores intrafolículares, inhibidores o estimuladores, que controlan la selección, dominancia y atresia.

Además, el patrón de desarrollo folicular está asociado con cambios folículares en la expresión del ARNm que codifica los receptores de gonadotrofinas y enzimas esteroidogénicas que permiten que los folículos seleccionados, cuando se exponen al ambiente hormonal requerido, se desarrollen y ovulen. (Xu, Garverick, & Smith, 1995)

Las señales endocrinas tales como gonadotrofinas, inhibina y esteroides, así como factores de crecimiento producidos localmente, tales como insulina como factor de crecimiento I (IGF-I), factor de crecimiento transformador- α (TGF- α), factor de crecimiento transformador- β (TGF- β), factor de crecimiento epidérmico (EGF) y otras hormonas peptídicas, tales como activina, y folistatina, son responsables del control y coordinación de estos procesos (Armstrong & Webb, 1997)

2.6.1.1 Reclutamiento

Al inicio del ciclo estral, una cohorte de folículos es reclutado del pool de folículos antrales más pequeños (2 a 4 mm). El reclutamiento no es un fenómeno aislado o al azar. Parece que los folículos a ser reclutados como grupo o cohorte han recibido anteriormente una señal que les permite crecer y desarrollarse en vez de sufrir regresión (Fortune, 1994). El mecanismo que controla el reclutamiento de estos pequeños folículos y determina cuáles folículos son reclutados, se desconoce. La señal que estimula el reclutamiento parece ser una ligera elevación de FSH en plasma (Fortune, 1994). Así, (Xu, Garverick, & Smith) en 1995 sugirieron que los cambios en la expresión del ARNm para receptores de FSH y LH pueden ser importantes para el reclutamiento de una cohorte de folículos y selección y atresia del folículo dominante en bovinos.

(Adams, Matteri, Kastelic, Ko, & Ginther) en 1992 reportaron que 2 a 4 días antes de una onda de desarrollo folicular hay un incremento en FSH, lo cual sugiere que



incrementos en las concentraciones de FSH inician la fase de emergencia del crecimiento del folículo dominante.

2.6.1.2 Selección

Después de 2 a 4 días de reclutamiento (días 2 a 4 del ciclo estral), varios folículos de tamaño mediano (6 a 9 mm) pueden detectarse por ultrasonografía. Esta es la fase de selección en la cual un solo folículo emerge de la cohorte de folículos reclutados y continúa creciendo, mientras que otros folículos reclutados disminuyen de tamaño (Lucy, Savio, Badinga, De la Sota, & Thatcher, 1992). Usando ultrasonido y la relación E₂:P₄ en líquido folicular, reportaron que durante los días 1 a 3 del ciclo estral ocurre la selección del folículo dominante de la primera onda de desarrollo folicular. (Sunderland, Crowe, Boland, Roche, & Ireland, 1994)

(Ginther, Wiltbank, Fricke, Gibbons, & Kot) en 1996 definieron como selección o desviación, el inicio de la mayor diferencia, en crecimiento, entre los dos folículos más grandes presentes en el ovario. Ellos indicaron que el término desviación de folículos es un evento importante en el proceso de selección, y que los términos desviación y selección son sinónimas.

El final de la fase de selección se define en la vaca, como el momento cuando un folículo activo estrogénicamente, promueve su propio crecimiento e inhibe el crecimiento de otros folículos (Sunderland, Crowe, Boland, Roche, & Ireland, 1994). (Adams, Matteri, Kastelic, Ko, & Ginther, 1992) Mostraron que la disminución en las concentraciones circulantes de FSH es un componente integral del mecanismo de selección.

2.6.1.3 Dominancia.

El día 5 del ciclo estral, hay generalmente un solo folículo con un crecimiento sostenido, mientras que la tasa de crecimiento de otros folículos disminuye. Este folículo dominante de la primera onda, permanece dominante desde el día 5 hasta aproximadamente el día 9 (Driancourt, Thatcher, Terqui, & Adrieu, 1991) y durante este período de dominancia folicular no se observan nuevos folículos mayores de 5 mm en los ovarios (Lucy, Savio, Badinga, De la Sota, & Thatcher, 1992). Por lo tanto, un folículo dominante se define como un folículo ovárico (> 10 mm) que es reclutado y seleccionado durante una onda folicular y regula el crecimiento de otros folículos en el ovario (Lucy, Savio, Badinga, De la Sota, & Thatcher, 1992).

El folículo dominante causa la regresión de folículos de la misma cohorte y puede también suprimir una nueva onda de desarrollo folicular.

El folículo seleccionado para ser dominante, en cada una de las ondas de crecimiento folicular, no solo continúa su crecimiento, sino que se diferencia funcionalmente de tal manera que puede ser ovulado. La secreción de E2 por el folículo seleccionado parece ser importante y lo hace diferente de los folículos subordinados de la misma cohorte. Factores reguladores tales como E2 e inhibina producidos por el folículo dominante (o quizás por la cohorte de folículos en conjunto durante los primeros días después del reclutamiento), causan una disminución en la concentración de FSH que no es suficiente para soportar el crecimiento de los folículos subordinados (Fortune, 1994). Hay que distinguir entre dominancia morfológica y dominancia funcional.

Dominancia morfológica, está dada por el tamaño del folículo, identificándose, como folículo dominante, el folículo de mayor tamaño presente en ambos ovarios.

La dominancia funcional, parece tener dos aspectos: la habilidad del folículo dominante de inhibir el crecimiento de folículos más pequeños y la capacidad de ese folículo de ovular bajo condiciones hormonales apropiadas (Fortune, 1993).

Se han postulado varias hipótesis que explican cómo el folículo dominante ejerce dominancia. Una de ellas sostiene que el folículo dominante secreta un producto que directamente obstaculiza el crecimiento y desarrollo de folículos subordinados.

La segunda hipótesis sugiere que el folículo dominante podría causar la regresión de folículos subordinados indirectamente, vía mecanismos de retroalimentación negativa en los cuales E2 e inhibina causarían una disminución en la concentración de FSH, lo cual no es suficiente para mantener el crecimiento de folículos subordinados (Fortune, 1994).

La tercera hipótesis, explica la dominancia desde un punto de vista intraovárico, sugiere que la producción de factores locales en el ovario tales como el sistema IGF, componentes de la superfamilia del TGF- β , factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y la familia del EGF/TGF- α , pueden inhibir directamente el desarrollo de folículos subordinados (Armstrong & Webb, 1997).

(Sunderland, Crowe, Boland, Roche, & Ireland) en 1994 indicaron que entre los días 1 y 3 del ciclo estral ocurre la fase de selección del folículo dominante de principios de diestro; mientras los días 10 a 12 es la fase de selección para el próximo folículo

dominante y es también el período en que el primer folículo dominante cesa sus funciones o pierde la dominancia, haciéndose inactivo estrogénicamente, dando inicio a su fase de atresia. En ciclos con dos ondas de crecimiento folicular, la maduración del segundo folículo dominante coincide con la regresión espontánea del cuerpo lúteo, y el folículo ovula luego de la luteólisis. El folículo dominante de la segunda onda puede hacerse atrésico, entonces una tercera onda de crecimiento folicular puede iniciarse y se transforma en folículo preovulatorio. (Lucy, Savio, Badinga, De la Sota, & Thatcher, 1992)

En ciclos estrales de tres ondas de crecimiento folicular, la primera, segunda y tercera onda se inician los días 2, 9 y 16, respectivamente. En los ciclos estrales de dos ondas foliculares, la segunda onda de crecimiento folicular empieza dos días (día 11) más tarde que en el caso de ciclos estrales con tres ondas foliculares. Las ondas de desarrollo folicular en bovinos ocurren regularmente durante el ciclo estral y la preñez. (Fortune, 1994)

La atresia del folículo dominante no ovulatorio se caracteriza por un descenso significativo en el número de células de la granulosa, disminución en el número de receptores para LH y FSH y una disminución en la capacidad para producir E2 entre los días 7 y 13 del ciclo estral (De la Sota , Lucy, Staples CR, & Thatcher, 1993).

Durante el proceso de atresia, también ocurren cambios bioquímicos. Estos cambios incluyen reducción en la síntesis de ADN en las células de la granulosa, disminución en la expresión de connexina, proteína de las uniones gap, disminución de la unión de gonadotrofinas a sus receptores en las células foliculares, disminución en la expresión de ARNm para aromatasa y receptores para gonadotrofinas y disminución en la síntesis de E2 con el consecuente aumento en la síntesis de P4. Este último cambio parece ser debido a disminución en la actividad de la enzima P450c17, 20-líasa, que conlleva a una disminución en la síntesis de andrógenos y pérdida de la actividad de la enzima aromatasa. Durante la atresia, hay un aumento en la expresión de muchos genes, incluyendo los de las proteínas atadoras de IGF (IGFBP), lo cual está relacionado con la disminución de IGF-I endógeno que es esencial para la sobrevivencia de células foliculares. Recientes evidencias han demostrado que ocurre apoptosis de las células de la granulosa durante la atresia folicular en bovinos (Jolly, 1994).

2.6.2 Control hormonal de la dinámica folicular ovárica

Durante cada ciclo estral, los ovarios bovinos sintetizan y secretan E2 y P4, los cuales coordinan la función del sistema reproductivo femenino. Cada ciclo estral comprende una fase folicular y una fase luteal. La fase folicular se caracteriza por el desarrollo de un folículo preovulatorio que secreta E2, mientras que la fase luteal se caracteriza por la secreción de P4 por el cuerpo lúteo, el cual se forma después de la ovulación del folículo preovulatorio. Al final de la fase luteal, el cuerpo lúteo involuciona por acción de la prostaglandina F2 α (PGF2 α), y ocurre el desarrollo final del próximo folículo preovulatorio.

El folículo preovulatorio en desarrollo produce un nivel crítico de E2 que estimula al hipotálamo para aumentar la frecuencia y amplitud de los pulsos de hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH). Se sugiere que esto ocurre en bovinos, basado en un aumento de la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH. El incremento en los pulsos de LH amplifica la secreción de E2, completa el desarrollo folicular, induce el comportamiento estral y estimula la onda preovulatoria de LH. La ovulación ocurre aproximadamente 30 h después de la onda preovulatoria de LH (Chenault, 1976).

2.6.3 Desviación folicular y selección del folículo dominante entre *Bos taurus* y *Bos indicus*.

El éxito de los programas de reproducción está estrechamente relacionado con el desarrollo folicular ovárico y la calidad de los ovocitos. Durante las últimas décadas, se han propuesto una serie de terapias para manipular el crecimiento del folículo ovárico en el ganado vacuno.

El crecimiento folicular final y el diámetro del folículo dominante en el momento de la IATF son factores clave que pueden afectar significativamente la calidad de los ovocitos, la ovulación, el ambiente uterino, y, por consiguiente, la preñez.

El uso de superovulación (SOV), seguido de IA son técnicas que generan un mayor número de embriones por donante. Estas técnicas, que se asocian con la transferencia de embriones (ET) a las receptoras, son herramientas poderosas que difunden alta calidad genética y mejoran el rendimiento reproductivo principalmente en ganado lechero con estrés por el calor y reproductoras que repiten celos (Ambrose, Drost, Monson, & Rutledge, 1999)

Durante el crecimiento folicular y desarrollo de los ovocitos, se producen y se almacenan en el ovocito ARNm proteínas y aumenta la competencia del desarrollo con el aumento del diámetro folicular en el ganado bovino (Arlotto, Schwartz, First, & Leibfried - Rutledge, 1996)

Han sido un objetivo importante en los programas de reproducción actuales la optimización del tamaño y salud del folículo, especialmente para la IATF. Los folículos ovulatorios más grandes mostraron una mayor tasa de ovulación y dieron lugar a un mayor número de preñeces por IA (P/IA) en el ganado vacuno (Perry, 2007).

En razas Bos taurus, como la Holando, la desviación folicular ocurre cuando el folículo en desarrollo más grande alcanza 8,5 a 9,0 mm de diámetro mientras que en ganado Cebú, tal como Nelore, se produce la desviación cuando el folículo en crecimiento más grande alcanza los 5 a 7 mm (Sartorelli, 2005).

Hay excepciones, sin embargo, en ambos grupos genéticos de animales. Al comparar vacas Holando de alta producción en lactación con vaquillonas nulíparas Holando, (Sartori , Haughian , Shaver , Rosa , & Wiltbank) en al año 2004 observaron que la desviación se produjo cuando el folículo de mayor crecimiento llegaba a 9,8 mm en vacas en lactación y 8,3 mm en vaquillonas, respectivamente ($P <0,05$). Del mismo modo se detectó que la desviación folicular se produjo cuando el folículo en desarrollo más grande alcanzó $7,0 \pm 0,2$ y $8,9 \pm 0,4$ mm en vacas Nelore y vacas Holando no lactantes, respectivamente ($P <0,05$). (Sartori, Baruselli, Barros, & Bastos).

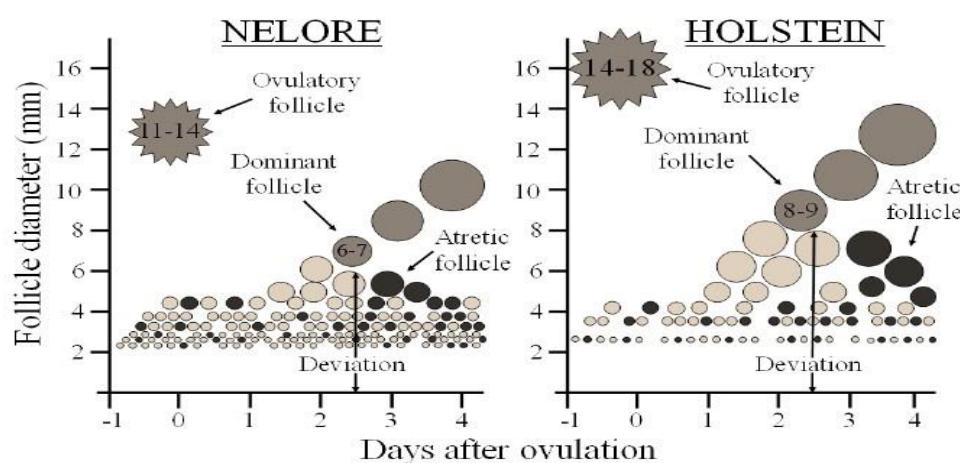


Figura 5. Representación del desarrollo folicular en Bos Indicus y Bos Taurus.
Fuente: (Sartori, Baruselli, Barros, & Bastos , 2010)

2.6.3.1 Adquisición de la capacidad ovulatoria

Aunque la desviación folicular se produce en *Bos indicus* cuando el folículo dominante alcanza de 5 a 7 mm de diámetro en comparación con 8 a 9 mm en *Bos Taurus* es posible que sea necesario crecimiento adicional del folículo dominante para adquirir la capacidad ovulatoria en ambas razas.

(Sartori , Fricke , Ferreira , & Ginther , 2001) Observaron que las vacas Holando con folículos de 7 u 8,5 mm de diámetro no ovularon, incluso después de la administración de altas dosis de pLH (40 mg). Sin embargo, 80% de las vacas con folículos ≥ 10 mm ovularon después de la administración de pLH. Por el contrario, (Gimenes, 2008) informó que la administración de 25 mg pLH en vaquillonas *Bos indicus* inducía la ovulación en 33,3; 80,0 y 90,0% de los animales con folículos que medían 7,0 a 8,4; 8,5 a 10 y > 10 mm de diámetro, respectivamente. Estos resultados no fueron inesperados, y corroboran los datos que muestran diferencias en el tamaño del folículo en crecimiento en el momento de la desviación folicular entre *Bos indicus* y *Bos taurus*.

Esta relación entre el diámetro folicular, la adquisición de la capacidad de ovulación y la expresión de genes de las isoformas de LHR, se ha investigado recientemente (Simões, Satrapa, Rosa, Piagentini, & Castilho) en el 2009 en el primer experimento, se encontró que la dosis pLH mínima (lutropina-V) necesaria para inducir la ovulación en vacas Nelore que tenían un folículo dominante de primera onda de 10 a 11 mm de diámetro fue de 3.125 mg. En el segundo experimento, se utilizaron 6,25 mg de pLH para inducir la ovulación de folículos dominantes de la primera onda, de 7 a 8,0; 8,1 a 9,0 y 9,1 a 10 mm de diámetro. En un tercer experimento, células de la teca y de la granulosa, obtenidas a partir de folículos ováricos derivados de matadero, se separaron para la extracción de ARN total, y la expresión de genes de las isoformas de LHR se midió por medio de RT-PCR semicuantitativo usando GAPDH como control interno.

Se concluyó que en el ganado cebú la capacidad ovulatoria está relacionada con un aumento del diámetro de los folículos y la expresión de receptores de LH en células de la granulosa.



2.6.3.2 Tamaño máximo del folículo dominante/folículo ovulatorio, CL y hormonas circulantes

(Ginther, Knopf, & Kastelic) en 1989 trabajando con hembras Holando, observaron que las vaquillonas con dos ondas foliculares tenían folículos dominantes con diámetros máximos de 17,1 y 16,5 mm para la primera y la segunda onda, respectivamente. En contraste, en hembras *Bos indicus*, los diámetros reportados fueron 11,3 y 12,3 mm, respectivamente (Figueiredo, Barros, Pinheiro, & Sole, 1997). Del mismo modo, en el ganado cebú, el tamaño del CL osciló entre 17 y 21 mm de diámetro (Segerson, Hansen, Libby, Randel, & Getz, 1984) mientras que en ganado *Bos taurus* se detectaron CL con diámetros de 20 a 30 mm (Ginther, Knopf, & Kastelic, 1989). Aunque parece que hay claras diferencias en el tamaño de las estructuras ováricas entre *Bos taurus* y *Bos indicus*, los tamaños de los folículos, y, en consecuencia, los tamaños de los CL pueden ser determinadas por factores distintos al de la raza.

Distintos estudios han informado que las vacas lecheras desarrollan folículos ovulatorios más grandes, pero tienen menores concentraciones de estradiol sérico que las vaquillonas (Sartori, Haughian, Shaver, Rosa, & Wiltbank, 2004) o las vacas secas (De la Sota, Lucy, Staples CR, & Thatcher, 1993) lo cual sugiere un aumento del metabolismo de los esteroides en las vacas lecheras tal como informaron (Sangsritavong, Combs, Sartori, Armentano, & Wiltbank, 2002). En relación con la concentración sérica de estradiol, hay pocos datos que comparan *Bos indicus* y *Bos taurus*. En el estudio de Álvarez (2000) no hubo diferencias en la máxima circulación de estradiol entre vacas Brahman, Angus y Senepol ($8,9 \pm 1,6$; $9,1 \pm 1,4$ y $8,7 \pm 1,4$ pg/ml, respectivamente). Este parece ser el único estudio en el que el diámetro máximo del folículo ovulatorio fue mayor en *Bos indicus* ($15,6 \pm 0,5$ mm) que en ganado *Bos taurus* ($12,8 \pm 0,4$ and $13,6 \pm 0,4$ mm para Angus y Senepol, respectivamente).

Según (Randel, 1976) *Bos indicus* y hembras mestizas *Bos indicus* tenían menor concentración de progesterona por gramo de tejido luteal que las hembras *Bos taurus*. Sin embargo, (Segerson, Hansen, Libby, Randel, & Getz, 1984) no detectaron diferencias en la concentración de progesterona en el CL entre vacas Brahman y Angus ($75,8 \pm 11,3$ y $65,9 \pm 5,3$ $\mu\text{g/g}$ de CL, respectivamente, $P > 0,10$). Por el contrario, los estudios realizados en Brasil detectaron niveles mayores de



progesterona circulante en ganado *Bos indicus* (Nelore o Gir) en comparación con *Bos taurus* (Angus y Holando). (Carvalho, Reis , Nichi , Souza, & Baruselli) compararon *Bos indicus* (Nelore y Gir), *Bos taurus* (Angus y Holando) y mestizas (Angus x Nelore y Gir x Holando) durante todo el período de tiempo de un protocolo de sincronización de estro. En una fase aleatoria del ciclo estral (Día 0), los animales recibieron un dispositivo intravaginal de progesterona más benzoato de estradiol. Durante ese período (con un dispositivo de progesterona), las concentraciones de progesterona sérica fueron mayores en vaquillonas *Bos indicus*. Del mismo modo, (Bastos, Meschiatti, Surjus, & Prata, 2012) informaron que aunque el diámetro máximo del folículo ovulatorio ($15,7 \pm 0,3$ vs $13,4 \text{ mm} \pm 0,3 \text{ mm}$) y el volumen máximo del CL ($7610,5 \pm 512,0 \text{ mm}^3$ vs $4916,6 \pm 548,1 \text{ mm}^3$) fueron mayores en vacas Holando, el pico plasmático de estradiol ($7,70 \pm 0,67$ vs $12,71 \pm 0,98 \text{ pg/ml}$) y las concentraciones de progesterona ($4,06 \pm 0,18$ vs $4,64 \pm 0,40 \text{ ng/ml}$) fueron mayores en vacas Nelore. Esto sugiere que las hembras *Bos indicus* pueden metabolizar más lentamente el estradiol y la progesterona.

2.7 CUERPO LUTEO

El CL se observó por primera vez en ciclos estrales de una onda, el d 3, teniendo un diámetro de $13,0 \pm 2,4 \text{ mm}$. En CE's de dos ondas, se observó el d 4 del ciclo, teniendo un diámetro de $16,7 \pm 0,7 \text{ mm}$; mientras que en el ciclo estral de tres ondas, el CL fue observado más temprano, el día 2 con un diámetro de 15 mm. En hembras *Bos indicus* se ha observado el CL por primera vez entre los d 2 y 3 del ciclo (Viana, Ferreira, Sá, & Camargo, 2000)

2.7.1 Tamaño del cuerpo lúteo y niveles de progesterona

Luego de la ovulación se forma el CL, el cual crece linealmente, obedeciendo a un proceso de hipertrofia de las células luteales grandes e hiperplasia de las células luteales pequeñas, responsables del 40% y 20%, respectivamente, de su volumen total (Wiltbank, Güme, & Sartory, 2006). Durante la evaluación ecográfica del CL, pueden observarse cambios en su diámetro y en su ecotextura, estando la ecogenicidad del CL muy relacionada con su funcionalidad (Battocchio, Gabai, Mollo, & Veronesi, 1999)



Figueiredo, Barros, Pinheiro y Sole (1997) describen desde el día de su aparición en hembras *Bos indicus*. Desde el día de su aparición (d 4 del CE: $16,7 \pm 0,7$ mm) el CL incrementó su tamaño linealmente, a una tasa de $0,47 \pm 0,1$ mm/d ($R^2=0,25$) hasta alcanzar su máximo diámetro el d 9 del CE ($19,5 \pm 0,6$ mm). Tasas de crecimiento similares ($0,42$ mm/d) han sido descritas por Viana (1999), en vacas de la raza Gir.

Se repite el patrón de aumento en los niveles plasmáticos de P4 descrito por Díaz (1986) en hembras Brahman, que van desde 0,5 ng/mL el día del celo (d 0), hasta alcanzar su mayor concentración el d 13 del ciclo (9,2 ng/mL), manteniéndose los valores similares hasta el día 17. El día 15 del CE, se observó un rápido descenso en los niveles de P4, alcanzando un valor de 0,9 ng/mL el d 18, hasta llegar finalmente a 0,1 ng/mL el d 21 del CE. Esto indica el fin de la fase luteal, lo cual obedece a cambios degenerativos en las células luteales (luteólisis), por efecto de la PGF2alfa liberada en el endometrio uterino al final del diestro (Correa, 1992).

2.7.2 Diámetro del cuerpo lúteo.

El cuerpo lúteo presente al momento de la implantación del embrión juega un papel importante en los resultados de la transferencia de embriones ya que se espera que secrete suficiente cantidad de progesterona para el mantenimiento de la preñez del embrión transferido (Vasconcelos, 2001).

La evaluación del tamaño del cuerpo lúteo se hace el día de la transferencia del embrión, vía palpación rectal. Siguiendo la clasificación descrita por Zemjanis (1996):

- Cuerpo lúteo 1 (CL1): cuerpo lúteo blando, no mayor a 1 cm de diámetro.
- Cuerpo lúteo 2 (CL2): cuerpo lúteo blando, de 1 a 2 cm de diámetro.
- Cuerpo lúteo 3 (CL3): cuerpo lúteo de más de 2 cm de diámetro.

La progesterona es secretada por el cuerpo lúteo formado en el ovario donde ocurrió la ovulación que produjo la preñez, ayudando al establecimiento y mantenimiento de esta así como de un parto exitoso (Shah, 2007)

Binelli (2001) con el objeto de elevar las tasa de concepción usó diferentes estrategias farmacológicas, consistente en el uso de hCG, GnRH o LH al día 7 después del estro induciendo la formación de cuerpos lúteos accesorios por luteinización de los folículos dominantes o ejerciendo un efecto luteotrópico adicional propio de la hCG, que estimula la producción de P₄. En el estudio mencionado se

obtuvieron los siguientes resultados en concentraciones de progesterona (ng/ml) el día 13: 4.79 (+/- 2.79), 8.42 (+/- 3.64), 6.07 (+/- 3.09) para GnRH, hCG y LH respectivamente, concluyeron que con el uso de estas hormonas se eleva la cantidad de receptoras aptas para recibir un embrión en la evaluación post sincronización comparado con el grupo control sin tratamiento.

De manera similar otros autores han diseñado protocolos que buscan favorecer la formación de uno o más cuerpos lúteos, Baruselli (2004) comparó diferentes protocolos de sincronización en novillas receptoras *Bos indicus x Bos taurus* (F1).

En un estudio, Nogueira (2004) reportan que un incremento en la concentración de progesterona no mejora las tasas de preñez en programas de TE. En ese estudio, se administró eCG a tres grupos (control 0 UI, 200 UI, 400 UI y 600 UI). A pesar de que se aumentaron las concentraciones plasmáticas de progesterona (3.93ng/ml, 4.24 ng/ml, 5.95 ng/ml y 7.81 ng/ml respectivamente), no hubo cambios significativos en las tasas de preñez (41.9% 50.0%, 25.0% y 20.9%), e inclusive se observó una tendencia a la disminución en las tasas de preñez.

Se analizó entre otros factores el cuerpo lúteo encontrando que no hay diferencias en la tasa de preñez ($p>0.10$) cuando se transfieren embriones de PIV en receptoras que al momento de la transferencia tenían cuerpos lúteos sólidos ($n= 47$) versus receptoras con cuerpos lúteos con una cavidad observada a la ultrasonografía ($n= 26$). Encontrando 34% y 46% de preñez respectivamente; esto puede ser debido a que el cuerpo lúteo con cavidad podría tener la misma actividad de producción de progesterona sin afectar tasas de preñez. (Oyuela, 2009)

2.7.3 Criterios de clasificación de un CL normal de 7 días.

- Su tamaño equivale a 1/3 a 1/2 del volumen ovárico
- Su masa es elástica
- Su fijación no es fuerte, son fácilmente enucleables
- Si el cuerpo lúteo se encuentra en el interior del ovario: comparar el tamaño del ovario con el contralateral.

La diferencia deberá corresponder a la relación mencionada. Los criterios de evaluación de la calidad de los cuerpos lúteos son variables, sin embargo los esfuerzos por aumentar de esta manera el éxito de la transferencia no arrojaron los



resultados esperados. No fue posible establecer una relación entre la calidad del cuerpo lúteo y la preñez de una receptora (Donalson, 1985).

2.8 ECOGRAFÍA REPRODUCTIVA.

En la actualidad existen modernos recursos tecnológicos disponibles en el mercado para apoyar los programas de manejo y control reproductivo del ganado bovino. La ecografía reproductiva ha sido ampliamente utilizada en el estudio de los diferentes aspectos de la función reproductiva de la vaca, tanto en el campo de la investigación científica y en el área clínica, como en las explotaciones comerciales de animales mestizos de doble propósito (DP). Esto ha facilitado el desarrollo de un método de diagnóstico y de interpretación clínica y funcional del estado reproductivo durante el ciclo estral, la gestación y el posparto. En la actualidad, esta tecnología constituye una valiosa herramienta para ayudar a solucionar los numerosos problemas relacionados con la reproducción de la vaca en nuestro medio. (Perea , 2012)

2.8.1 ¿Qué es y cómo funciona la ecografía?

Tiene la propiedad de permitir observar los órganos genitales en forma rápida, sin ocasionar daño alguno. Entre sus ventajas se encuentra la posibilidad de realizar una evaluación más exacta y objetiva del útero y ovarios que mediante la palpación rectal. Su funcionamiento se basa en la emisión y recepción de ondas sonoras de alta frecuencia (no audibles para el oído humano) desde un transductor de ultrasonido o sonda, que se introduce en el recto a través de cuyas paredes se examinan los órganos reproductivos de la vaca (Figura 1). Los impulsos de ultrasonido son emitidos y dirigidos hacia el órgano evaluado gracias a los movimientos y variación del ángulo del transductor dirigidos por el operador. Estos impulsos viajan a través de los tejidos a una velocidad constante hasta encontrar un órgano en cuya superficie “rebotan” y regresan en forma de eco al transductor.

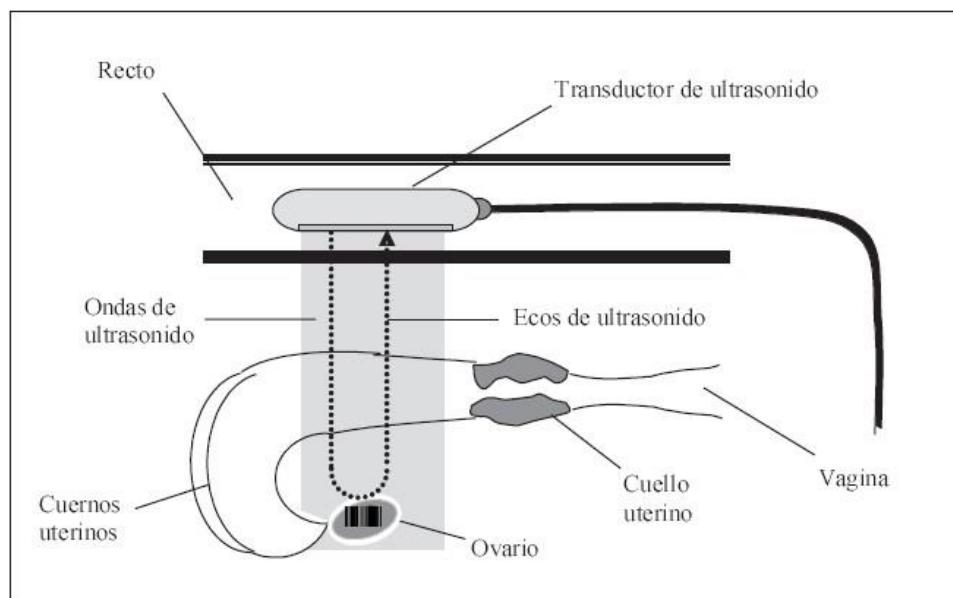


Figura 6. Emisión y recepción de ondas de ultrasonido desde un transductor hacia los órganos reproductivos de la vaca

Fuente: (Perea, 2012)

Como resultado de este mecanismo se forma una imagen dinámica en la pantalla del monitor del equipo (muy semejante a la pantalla de un televisor) que muestra una delgada y profunda área, como si fuera una “rebanada”, de la estructura o tejido que se está evaluando. Esta imagen se observa en la pantalla de acuerdo a la densidad o dureza del tejido examinado, en una variedad de tonos que van desde el negro (color como se observan los líquidos) al blanco (los huesos y tejidos muy densos), incluyendo una amplísima gradación de tonos grises (cuerpo lúteo, estroma ovárico, etc.).

Las frecuencias más comúnmente usadas en la evaluación de los órganos reproductivos de grandes animales como la vaca son 3,5, 5,0 y 7,5 MHz. Las estructuras relativamente pequeñas, como los folículos ováricos localizados más próximos del transductor se pueden estudiar con una frecuencia entre 5,0 y 7,5 MHz. Por el contrario, grandes estructuras localizadas cerca del transductor tales como fetos y úteros de mediana y avanzada gestación, se observan mejor con frecuencias de 3,5 MHz. (Perea, 2012)



2.8.2 Ecografía reproductiva

Utilización de técnicas Ecográficas en la mejora de la Reproducción en ganado vacuno.

En 1969, (Stouffer) utiliza esta técnica para el recuento de fetos en la oveja durante la segunda mitad de la gestación. (Palaur), lo comenzaron a utilizar para el diagnóstico de gestación en la yegua.

Los ultrasonidos comenzaron a aplicarse a la reproducción bovina por Chevalier a principios de la década de los 80. En (1983) Tainturier comienza a realizar diagnósticos de gestación en esta especie.

Actualmente hemos de tener en cuenta que, la ecografía es una técnica simple, no invasiva, rápida y de fácil aprendizaje. Es segura sin efectos biológicos secundarios, y nos permite el estudio de las relaciones secuenciales entre y dentro de las estructuras.

2.8.3 Aplicaciones de la ecografía en reproducción bovina

La ecografía permite la exploración y estudio completo del aparato reproductor bovino.

En consecuencia será posible realizar:

Examen general de los ovarios.- Los tres componentes principales del ovario (folículos, cuerpos lúteos y estroma) son fácilmente distinguibles y éste es un método preciso para determinar estas estructuras y sus dimensiones.

Detección de los folículos y estudio de la dinámica folicular. Los folículos aparecen como zonas negras más o menos bien circunscritas, (anecogénicas), de tamaño inferior a los 25 mm, limitados por una pared delgada y se distinguen con bastante facilidad por tener un borde relativamente bien definido que contrasta con el estroma ovárico. Cuando hay un grupo de folículos muy próximos, a veces las paredes son muy finas para ser detectadas, apareciendo formas irregulares (se deberá a una compresión por parte de los otros folículos o de un cuerpo lúteo adyacente).

Detección del celo.- Tenemos un elevado nivel de estrógenos durante el periodo periovulatorio, lo que causa el aumento del tono, la tubularización del útero y el edema de los pliegues endometriales. Durante el celo normalmente es posible diferenciar los pliegues endometriales y el miometrio, corte de los cuernos así como las pequeñas acumulaciones de líquido en la luz del útero, cuya presencia se corresponde con descargas visibles de moco por la vulva o durante las exploraciones vaginales con el espéculo.

Proceso de la ovulación. - Indirectamente por la desaparición del folículo preovulatorio, o por la reducción brutal de su diámetro.

Diferenciación de quistes ováricos. - El quiste folicular posee una pared de 3mm o menos, interior anecogénico. En el caso del quiste luteal, la pared tiene un grosor entre 3 y 5 mm, con partículas ecogénicas en su interior.

También nos es útil para diagnosticar diversas patologías uterinas como:

Metritis: acúmulo de líquido no ecogénico y partículas ecogénicas en el interior.

Piometra: Se puede apreciar el útero distendido y las paredes engrosadas.

Identificación de fetos macerados y momificados. En ambos casos se aprecia un acúmulo de huesos y la forma del mismo y la distribución se pueden evaluar adecuadamente con el ecógrafo.

Diagnóstico de gestación. Es un hecho la enorme importancia económica del diagnóstico de gestación lo más exacto posible en la vaca. Teniendo en cuenta diferentes fenómenos fisiológicos (la baja prolificidad -1,02-, el largo periodo de gestación -9 meses-, la duración de ciclo estral -21 días-, el plazo de demora necesario durante el puerperio para restaurarse la ciclicidad ovárica y la involución uterina tras el parto), el ganadero dispone solo de dos ciclos ováricos para conseguir el objetivo de un ternero por vaca y año. Este objetivo es considerado como el óptimo en una explotación de ganado vacuno, lo que obliga a los productores a optimizar el potencial de producción de su rebaño, reduciendo el intervalo entre partos y consiguiendo la identificación precoz de los animales no gestantes. Esta detección se basa en la visualización de la vesícula embrionaria o del embrión.

Determinación del sexo fetal. - Es precisa la identificación del tubérculo genital en una localización u otra. Su imagen es la de una estructura hiperecogénica que puede aparecer bilobulada o trilobulada. Esta estructura originará el pene en el macho y el clítoris y la vulva en la hembra.

Estudios encaminados a relacionar la calidad ecogénica y estructural del cuerpo lúteo con su capacidad funcional son muy escasos. Así como el estudio de la eficacia del método de la ultrasonografía del cuerpo lúteo, como técnica de diagnóstico de gestación. (Alegre, Domínguez, & Gómez, 2016)



2.8.4 Ecografía del cuerpo lúteo

El cuerpo lúteo es una llave importante en numerosos procesos de la reproducción, tales como la ovulación, la duración del ciclo estral, el reconocimiento de la gestación y la supervivencia del embrión en los mamíferos.

La apariencia ecográfica de las estructuras luteales varía según el estado de desarrollo.

Podemos diferenciar:

Cuerpo lúteo joven (1-4 días). Con una ecogenicidad similar al estroma ovárico, irregular, pobemente definido, zonas anecogénicas y ecogénicas, color gris-negro.

Cuerpo lúteo maduro: estructura ecógena grisácea, borde bien definido, aspecto granular.

Cuerpo lúteo viejo (18-21 días): línea de demarcación tenue, débil efecto ecogénico, difícil diferenciación ecográfica.

Es posible la diferenciación de cuerpos lúteos con cavidad: no existen evidencias de que estas estructuras sean patológicas. Esta cavidad es frecuentemente oval, a veces es redonda y casi siempre es de situación central. Posee un diámetro entre 2- 22mm., con una ecogenicidad similar al folículo.

Nos puede aparecer una trabécula: no existen evidencias de que sea una estructura patológica. (Alegre, Domínguez, & Gómez, 2016)



CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 Biológicos

- 60 hembras bovinas.
- 60 embriones

3.1.2 Físicos

- Ecógrafo Aloka Prosound 2,
- Transductor de 5 MHz
- Kit de transferencia de embriones
- Tubos vacutainer.
- Termos refrigerantes para el traslado de muestras de sangre
- Jeringas y agujas descartables
- Aplicador de implantes Crestar

3.1.3 Químicos

- Implante auricular de norgestomet
- prostaglandina F2α
- Benzoato de estradiol
- GNRH
- eCG
- Progesterona.
- Lidocaína

3.2 MATERIALES DE OFICINA

- Computadoras portátil y de oficina
- Impresora
- Registros Reproductivos



3.3 MÉTODOS

3.3.1 Localización:

El estudio se realizó desde octubre del 2015 a mayo de 2016 en los cantones, Huamboya, Palora, Pablo Sexto y Morona, de la provincia Morona Santiago que posee las siguientes características climatológicas:

- *Altitud:* 1.000 metros sobre el nivel del mar
- *Coordenadas:* Longitud W 78°2,7". Latitud 1° 29,8"
- *Temperatura:* promedio anual de 14-37°C
- *Precipitación anual:* 1981-2006 mm
- *Humedad relativa:* 75%.

3.3.2 Criterios de inclusión

- Las hembras bovinas mestizas Charoláis receptoras, fueron de buenas características fenotípicas para recibir embriones de raza charoláis.
- Con un peso vivo entre 400 a 700 kg, para novillas primíparas y multíparas.
- Una condición corporal entre 3 – 4, bajo el mismo sistema de alimentación y manejo.
- Se seleccionaron de las ganaderías de los cantones Palora, Huamboya, Pablo Sexto y Morona de la provincia Morona Santiago.
- Fueron vacunados previamente contra Clostridiales, Aftosa, Rabia, Brucelosis y antiparasitarios con énfasis en parasitos externos como nuche y garrapata.

3.3.3 Criterios de Exclusión.

- Enfermedades reproductivas e infectocontagiosas.
- Vacas en anestro, que presenten ovarios alterados, lisos o sin estructuras.

3.3.4 Descripción de la unidad de análisis.

En esta investigación, se obtuvieron 3 unidades de análisis que comparten los mismos criterios de inclusión y exclusión anteriormente descritos y se diferencian únicamente por su categoría, que se refiere a su condición reproductiva.

La unidad de la primera categoría novilla mestiza Charolais que no haya tenido ninguna actividad reproductiva previa.

La unidad de la segunda categoría, fue una vaca mestiza Charolais de primer parto.

La tercera una vaca mestiza Charolais con más de un parto.

En la tabla 3 se observan las características de las tres unidades de análisis descritas, a las cuales se agregó los criterios de inclusión y exclusión para esta investigación.

Tabla 3. Características de la unidad de análisis de los grupos de estudio.

Grupo	Categoría	Peso (Kg)	Condición Corporal (C.C)
A	Novillas	400-700	3 – 4
B	1er parto	400-700	3 – 4
C	>1er parto	400-700	3 – 4

* Se asignó una letra por cada categoría, únicamente para facilitar el manejo de los datos durante los cálculos.

Fuente: Autor

3.4 Procedimiento

En esta investigación se utilizaron 60 hembras bovinas mestizas Charolais como receptoras, separadas en tres categorías, cada una de ellas estuvieron integradas por 20 animales (novillas, vacas de primer parto y vacas multíparas).

Las receptoras de embriones, se sometieron a 3 evaluaciones del tracto reproductivo mediante ultrasonografía.

- La primera se realizó en el día cero (día de la sincronización del celo);
- La segunda a los 7 días;
- La tercera a los 45 días post-ovulación.

Tabla 4. Caracterización de los tratamientos.

Tratamiento	Categoría	Nº Animales	Evaluaciones (en días)		
			1era	2da	3era
T1	Novillas	20	0	7	45
T2	1er parto	20	0	7	45
T3	+1 parto	20	0	7	45
	Total	60			

Fuente: Autor

3.4.1 Sincronización de las receptoras.

Una vez realizado la selección de las receptoras, considerando los aspectos de inclusión y exclusión, previa a la TE, se procedió a la sincronización del ciclo estral. Para este fin se aplicaron progestágenos más estrógenos y prostaglandinas, eCG, GNRH, de acuerdo al protocolo descrito en la Tabla 5.

Tabla 5. Protocolo de sincronización de las receptoras.

Día	Detalle	Dosis	Vía
0	Implante auricular de Norgestomet 3 mg	1 implante x animal	Sb
	Progesterona	50 mg x animal	Im
	Benzoato de Estradiol	2 mg	Im
8	Retiro del implante		
	Prostaglandina F2α, cloprostenol 250 mcg	50 mg	Im
	eCG (gonadotropina sérica equina)	500 UI	Im
10	GNRH, Gonadorelina	250 mcg	Im

Fuente: Autor

- En el día 0, las receptoras fueron aplicadas un implante auricular de liberación lenta de progesterona y una dosis de 2mg de benzoato de estradiol, más 50mg de progesterona.
- En el día 8 se aplicó una dosis de 50mg de prostaglandina F2α,



adicionalmente se aplicó 500UI de eCG (gonadotropina sérica equina), luego se procedió a retirar el implante auricular.

- En el día 10, se realizó una aplicación de GNRH gonadorelina 250mcg con la finalidad de favorecer la ovulación más sincrónica.

3.4.2 Tamaño del folículo.

En el día 0 del celo sincronizado se evalúo a cada receptora por ecografía ovárica por una sola vez midiendo el diámetro del folículo preovulatorio determinado en mm, la que se realizó en los dos ovarios izquierdo y derecho respectivamente.

3.4.3 Transferencia de embriones Charoláis, tamaño de cuerpo lúteo y toma de muestras de sangre.

En el día 7 se tomaron las muestras sanguíneas de las receptoras mestizas charoláis mediante la punción de los vasos sanguíneos coccígeos para la determinación de los valores de progesterona sanguínea dada en ng/ml que fueron procesados por laboratorio mediante la técnica de ELISA como se describe a continuación:

Elisa competitivo

Muestra: Suero o plasma con EDTA.

Procedimiento: Colocar 25 μ l de calibradores A-G, muestras, controles por duplicado. Añadir 200 μ l de conjugado. Mezclar e incubar por 60 minutos de 20-25°C.

Lavado: Diluir solución WASH a 1200 ml con agua destilada. Lavar 3 veces.

Sustrato: Añadir 200 μ l de sustrato por pocillo e incubar por 15 minutos de 20-25°C.

Stop: Añadir 100 μ l. Mezclar cuidadosamente.

Lectura: 450 nm

Validación:

- La absorbancia media del calibrador A $\geq 1,0$.
- La diferencia entre los duplicados de calibrador A no excede de un 10%.

Cálculo:

Grafique las absorbancias medidas contra las concentraciones del calibrador en papel milimetrado lineal. La interpolación apropiada de los puntos medidas graficados da lugar a una curva de calibración desde la cual puede determinarse la



concentración del analito en la muestra. Para calcular las concentraciones del analito, seleccionar una opción apropiada y validada para el cálculo de la curva (recomendación: punto a punto)

También en el día 7 se determinó el tamaño del cuerpo lúteo a las receptoras mestizas charoláis. Al hacer la evaluación ecográfica de las estructuras ováricas presentes en la receptora se examinó los dos ovarios izquierdo y derecho. Los cuerpos lúteos (CL) los clasificamos en tres grupos básicamente según su diámetro de la siguiente manera:

- CL mayores o iguales a 20mm se denominaron CL1
- CL entre 16 a 20mm se denominaron CL2
- CL menores a 16mm se denominaron CL3.

También se tomó en cuenta la consistencia del CL, si son con cavidad que con frecuencia fueron ovales y a veces redondeados y de situación central con una ecogenisidad similar al folículo.

En este mismo día 7 del proceso, se llevó a cabo la transferencia del embrión Charoláis, de acuerdo a la técnica establecida. Procediendo hacer anestesia epidural con 4 a 5ml de lidocaína hasta obtener el efecto deseado, luego es preparado y transferido el embrión al cuerno uterino ipsilateral al cuerpo lúteo considerado de mejor tamaño y consistencia.

3.4.4 Evaluación de preñez

El día 45 post ovulación, se hizo el diagnóstico de preñez por ecografía a las receptoras que fueron transferidas un embrión.

3.5 DISEÑO ESTADÍSTICO

La información generada por las evaluaciones en la ejecución del trabajo, fueron recolectados en fichas de campo e ingresada a la hoja de cálculo Microsoft Excel, generándose una base de datos simple, con las variables de estudio colocadas en las columnas y las unidades experimentales o frecuencia de casos en las filas de la hoja de Excel.

Las pruebas estadísticas de comparación, se utilizaron para determinar si existen diferencias entre las tasas de retención de embriones de las receptoras sincronizadas, por categoría; así mismo, se verificó si existe asociación de la retención la preñez con la categoría, y con el tamaño del folículo preovulatorio, cuerpo lúteo y los niveles plasmáticos de progesterona.

Para el análisis estadístico se pasó la base de datos, al software estadístico SPSS con el cual se desarrollaron las pruebas estadísticas que se detallan a continuación:

3.5.1. Prueba de la hipótesis. La verificación de la hipótesis de investigación se realizó mediante la prueba de significación de Chi cuadrado al 5%

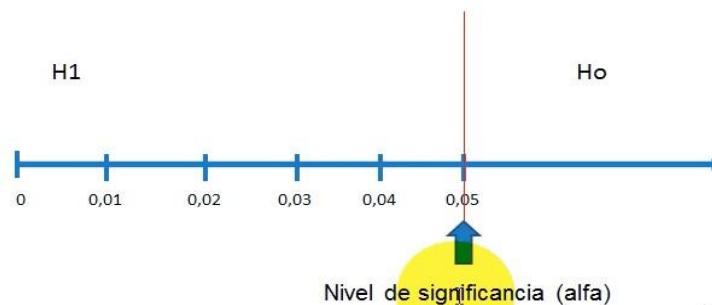


Figura 7. Prueba de significación de Chi cuadrado al 5%

Fuente: Autor

Si el valor p es $< 0,05$ se descarta la hipótesis nula y se aceptará la hipótesis alternativa H_0 de que la tasa de preñez de las receptoras de las 3 categorías, en programas de transferencia de embriones, es diferente, según el tamaño del cuerpo lúteo, en el día siete después de la ovulación.

Tabla 6. Categorías de las receptoras

Grupos	Categoría	Si	%	No	%	Total
A	Novillas					20
B	1er parto					20
C	+ 1 parto					20

Fuente: Autor



3.5.2 Tasas o frecuencias

3.5.2.1 Retención embrionaria. Estas tasas de preñez se obtuvieron de los elementos muestrales pertenecientes a los 3 grupos. El modelo de tabla que se muestra a continuación se empleará para el cálculo de dichas tasas.

3.5.3 Medidas de tendencia central y dispersión:

Para las variables numéricas: Tamaño del folículo preovulatorio, cuerpo lúteo y progesterona en sangre, se calcularon los estadísticos: media, desviación estándar, intervalo y límites de confianza, como se muestra en el siguiente modelo de tabla.

3.5.4 Pruebas de comparación:

3.5.4.1 Retención embrionaria.

Mediante la prueba de comparación z, se comparan las tasas de retención embrionaria, entre los 3 grupos de la muestra. Las pruebas de significación se aplicaron sobre los datos de frecuencia. El valor $p = 0,05$ permitirá saber cuál es la categoría con mejores tasas de preñez.

3.5.4.2. Retención vs tamaño de folículo, cuerpo lúteo y progesterona.

Comparamos las tasas de preñez, con respecto a los tamaños del folículo, cuerpo lúteo y progesterona sanguínea. Las decisiones se tomaron en base a los resultados de la prueba de significación.

3.5.5. Pruebas de asociación:

3.5.5.1. Retención embrionaria por categoría.

Se obtuvieron las tasas de frecuencia de preñez que servirán para aplicar la prueba de significación. El valor p , posibilitará conocer el grado de asociación entre preñez y categoría de las receptoras.

3.5.5.2. Retención embrionaria vs Tamaño folicular, cuerpo lúteo y progesterona.

Preñez - Tamaño folicular

Preñez - Cuerpo lúteo

Preñez - Progesterona en sangre.

Las pruebas de significación establecen el grado asociación entre las variables de la prueba.

CAPITULO IV: RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados que se obtuvieron de esta investigación.

4.1 RELACION DEL TAMAÑO DE LAS ESTRUCTURAS OVÁRICAS Y PROGESTERONA CON LA PREÑEZ.

Tabla 7. Estadísticos descriptivos de las estructuras ováricas por categoría de receptoras, en el día 0 del celo sincronizado y 7 de la transferencia.

		Categoría			Kruskal Wallis
		Novilla	Primípara	Multípara	
Folículo (mm)	Media	16,15	15,65	16,05	0,642
	Desv estándar	1,50	1,46	1,57	
Cuerpo lúteo (mm)	Media	20,10	19,50	19,75	0,667
	Desv estándar	2,08	2,50	1,97	
Progesterona (ng/ml)	Media	11,64	10,16	10,52	0,255
	Desv estándar	4,65	5,52	3,95	

Fuente: Autor

Tamaño del folículo

Novillas. En esta categoría se tuvo una media de 16,15 mm, con una desviación estándar de 1,50 mm. La variabilidad es más alta en las multíparas.

Primíparas. La media fue de 15,65 mm, con una desviación estándar de 1,46 mm.

Multíparas. Se tuvo una media de 16,05 con una desviación estándar de 1,57 mm.

Tamaño del cuerpo lúteo

Novillas. En esta categoría se tuvo una media de 20,10 mm, con una desviación estándar de 2,08 mm.

Primíparas. La media fue de 19,50 mm, con una desviación estándar de 2,50 mm.

La variabilidad del tamaño, es más alta en las primíparas.

Multíparas. Se tuvo una media de 19,75 con una desviación estándar de 1,97 mm.

Progesterona en sangre

Novillas. En esta categoría se tuvo una media de 11,64 ng/ml, con una desviación estándar de 4,65 ng/ml.

Primíparas. La media fue de 10,16 ng/ml, con una desviación estándar de 5,52 ng/ml. Los niveles plasmáticos de progesterona fueron mayores en esta categoría.

Multíparas. Se tuvo una media de 10,52 ng/ml una desviación estándar de 3,95 mg/ml.

Sin embargo, de conformidad con la prueba de significación de Kruskal Wallis, estas diferencias que constan en la tabla 7 tamaño de las estructuras ováricas, folículo, cuerpo lúteo y los niveles de progesterona plasmática, no presentaron diferencias significativas entre las tres categorías de receptoras.

4.2 TASAS DE PREÑEZ POR CATEGORÍA

En la columna “Total” de la tabla 8, se observan las receptoras de embriones Charoláis por categoría. Del total de 60 hembras bovinas, 39 resultaron preñadas lo que equivale a una tasa general del 65% y 21 que son el 35%, resultaron vacías al diagnóstico ultrasonográfico.

De las 20 novillas 11 (55%) presentaron preñez y 9 (45%) resultaron vacías al examen. En el grupo de las 20 con primer parto, 13 tuvieron una tasa de preñez del 65% y 7 (35%) no se preñaron. Mientras tanto, en las 20 multíparas, 15 (75%) se preñaron y solamente 5 (25%) se registraron como vacías.

Tabla 8. Frecuencia de preñez en tres categorías de receptoras de embriones bovinos Charoláis.

Categoría	Diagnóstico de preñez				χ^2	p
	Preñada	Vacía	Total			
	Casos	%	Casos	%	Casos	
Novilla	11	55	9	45	20	
Primer parto	13	65	7	35	20	0,42
Multípara	15	75	5	25	20	
Total	39	65	21	35	60	

Fuente: Autor

Las diferencias entre las frecuencias observadas y esperadas de preñez, para la prueba de Chi cuadrado, con $\chi^2 = 1,76$; $p = 0,42 > 0,05$ con $gl = 2$ indica que las diferencias observadas entre las tasas de preñez de las tres categorías son estadísticamente no significativas.

La figura 8 muestra la frecuencia total de preñez del experimento.

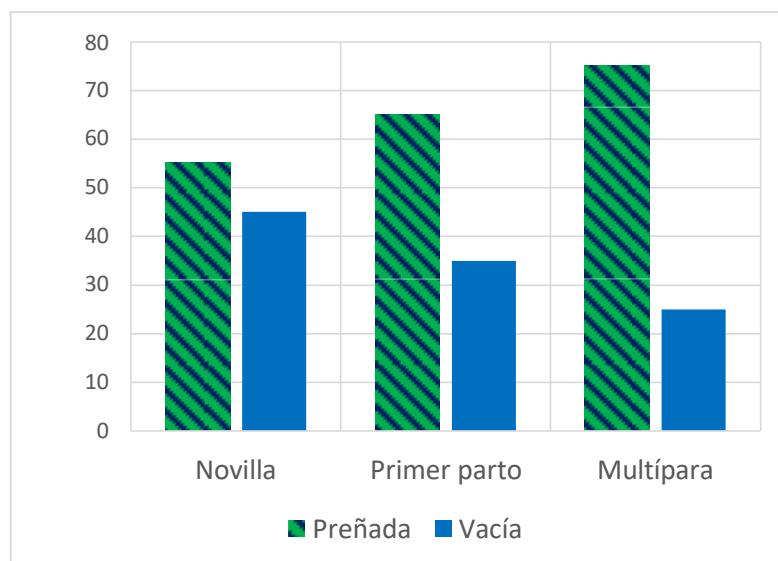


Figura 8. Tasa de preñez por categoría

Fuente: Autor

La figura 8, muestra las tasas de preñez por categoría, así la columna más alta corresponde a las multíparas, en segundo lugar están las primíparas y finalmente las novillas; sin embargo la prueba de significación (Anexos) indica que estas diferencias entre categorías de receptoras bovinas no son reales y ocurrieron por azar.

4.1 PRUEBAS DE HIPÓTESIS

Hipótesis Ha. “La tasa de preñez de las receptoras en programas de transferencia de embriones es diferente, según el número de partos y el tamaño del cuerpo lúteo, en el día siete después de la ovulación”.

La prueba de hipótesis (Anexos) indica que no hay evidencia estadística suficiente para sostener la primera parte de la hipótesis alternativa de investigación, en consecuencia las tasas de preñez de las tres categorías receptoras, en programas de transferencia de embriones no son diferentes; por lo tanto no existe asociación entre las tasas de preñez y la categoría de receptoras.

Para verificar la segunda parte de la hipótesis de investigación, por falta de normalidad en la distribución de los datos se utilizó la prueba alternativa, U de Mann Whitney (Anexos).

Ha. La tasa de preñez de las receptoras en programas de transferencia de embriones, es diferente, según el tamaño del cuerpo lúteo.

Tabla 9. Estadísticos del folículo, cuerpo lúteo y progesterona plasmática en receptoras preñadas y vacías, sin categorización.

Estructuras ováricas	Media	Desviación estándar	IC 95%	Mann
				Whitney
Folículo (mm)	Preñada	16,18	1,34	0,073
	Vacía	15,52	1,72	
Cuerpo lúteo (mm)	Preñada	20,28	1,96	0,009
	Vacía	18,86	2,29	
Progesterona (ng/ml- P4)	Preñada	12,23	4,86	0,000
	Vacía	8,07	2,95	

Fuente: Autor

Cuerpo lúteo. En las receptoras preñadas, tuvo una media de 20,28 mm, con una desviación estándar de 1,96 mm y un valor de $\pm 0,64$ para el IC al 95%. El tamaño de esta estructura tiene mayor variabilidad en las hembras vacías.

La U de MW ($p = 0,009$) indica que la preñez se asocia con el tamaño del cuerpo lúteo.

Progesterona plasmática. En las preñadas tuvo una media de 12,23 ng/ml, con una desviación estándar de 4,86, con un valor $\pm 1,58$ para el IC al 95%, esto indica una mayor variabilidad de los niveles plasmáticos de progesterona en las preñadas que para las vacías. La U de MW ($p = 0,000$) establece que el nivel de progesterona plasmática se asocia con la preñez y su nivel depende de la preñez.

Tamaño del folículo

Novillas. En esta categoría se tuvo una media de 16,15 mm, con una desviación estándar de 1,50 mm. La variabilidad es más alta en las multíparas.

Primíparas. La media fue de 15,65 mm, con una desviación estándar de 1,46 mm.

Multíparas. Se tuvo una media de 16,05 con una desviación estándar de 1,57 mm.

Tamaño del cuerpo lúteo

Novillas. En esta categoría se tuvo una media de 20,10 mm, con una desviación estándar de 2,08 mm.

Primíparas. La media fue de 19,50 mm, con una desviación estándar de 2,50 mm. La variabilidad del tamaño, es más alta en las primíparas.

Multíparas. Se tuvo una media de 19,75 con una desviación estándar de 1,97 mm.

Progesterona en sangre

Novillas. En esta categoría se tuvo una media de 11,64 ng/ml, con una desviación estándar de 4,65 ng/ml.

Primíparas. La media fue de 10,16 ng/ml, con una desviación estándar de 5,52 ng/ml. Los niveles plasmáticos de progesterona fueron mayores en esta categoría.

Multíparas. Se tuvo una media de 10,52 ng/ml una desviación estándar de 3,95 mg/ml.

Sin embargo, de conformidad con la prueba de significación de Kruskal Wallis, estas diferencias que constan en la tabla 9. Tamaño de las estructuras ováricas, folículo, cuerpo lúteo y los niveles de progesterona plasmática, no presentaron diferencias significativas entre las tres categorías de receptoras.



CAPITULO V: DISCUSIÓN

En la presente investigación encontramos que no hay diferencia significativa en las tasas de preñez de las tres categorías de receptoras; aunque numéricamente si es significativa mostrándose así en los resultados numéricos de las multíparas que se preñaron en un 75%, esto puede estar asociado a su madurez sexual, vacas que posiblemente ya alcanzaron su tamaño y peso adulto.

(Alberio, 2009), manifiesta que el uso de vacas multíparas con historia reproductiva conocida, que garantiza en cierta manera su comportamiento futuro, sumado al hecho de tener menos problemas de parto, hace que éste sea finalmente el animal de elección.

Las novillas posiblemente en la presente investigación el protocolo de sincronización aplicado produce una tasa relativamente inferior de ovulación frente a la respuesta obtenida en vacas.

(Bó) en el año 2013 manifiesta que la mayoría de las novillas tienen tres ondas foliculares y eso no permite una buena sincronización del celo.

Según (Alberio) en el año 2009 indica que la edad de la receptora es un aspecto importante, aunque no hay coincidencia entre autores, en el que se difiere el criterio si es mejor una vaquillona que una vaca que ya ha parido alguna vez.

(Munar, Mujica, Martín, Irouleguy, & Huter), en el año 2013 analizaron el efecto de la edad de las receptoras de embriones sobre el índice de preñez. Las novillas o vaquillonas se preñaron un 70,2%, atribuyendo que las novillas tuvieron mejor respuesta a la sincronización con prostaglandinas, frente a un 65,8% de las vacas preñadas.

En trabajos no publicados y en nuestra experiencia en programas de TE como SEPADEMG las vacas primíparas presentan una recuperación puerperal más prolongada y son más sensibles al amamantamiento por el efecto del ternero al pie, efecto que no se ha visto así con las multíparas.



La preñez se encuentra en un rango del tamaño folicular que va desde los 14mm hasta los 20mm.

Según (Duica, Tovío, & Grajales, Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de trasplante de embriones bovinos) en el 2007 indican que el tamaño del folículo influencia en el tamaño del cuerpo lúteo y a su vez en la secreción de progesterona, al haber mayor producción de progesterona se espera generar mejores condiciones uterinas para el desarrollo embrionario.

(Rosatti, Vittone, Aller, & Cano) en el 2011 encontró que cuando el folículo dominante tiene un diámetro mayor de 10,5mm es esperable una tasa de ovulación cercana al 90% y una tasa de gestación mayor al 40%.

(Baruselli) en el año 2001 encontró que vacas receptoras con cuerpos lúteos de 2,36cm de diámetro tuvieron una tasa de preñez del 70%.

Los niveles de progesterona en las receptoras preñadas van desde un rango de 6,89 hasta 24,95ng/ml.

(Moreno, Cutaia, Tríbulo, Cacci, & Vi) en el año 2003 encontraron que el tamaño del cuerpo lúteo está relacionado con los niveles de progesterona.

Se analizó entre otros factores el cuerpo lúteo encontrando que no hay diferencias en la tasa de preñez ($p>0.10$) cuando se transfieren embriones de PIV en receptoras que al momento de la transferencia tenían cuerpos lúteos sólidos ($n= 47$) versus receptoras con cuerpos lúteos con una cavidad observada a la ultrasonografía ($n= 26$). Encontrando 34% y 46% de preñez respectivamente; esto puede ser debido a que el cuerpo lúteo con cavidad podría tener la misma actividad de producción de progesterona sin afectar tasas de preñez. (Oyuela, 2009)



CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES.

Al final de este trabajo se llegó a la conclusión, de conformidad con las pruebas estadísticas y de hipótesis que la preñez se dio por igual en las tres categorías de receptoras de embriones Charoláis encontrándose la preñez en un rango de 14mm a 20mm del tamaño folicular del celo sincronizado; así mismo se encontró que la preñez se ubica entre los valores de 16mm hasta 24mm de tamaño del cuerpo lúteo.

RECOMENDACIONES.

- Saber elegir las mejores receptoras, que tengan buena condición corporal entre 3 a 4 en una escala evaluación de 1 a 5.
- Receptoras que vengan con buenos programas de vacunación para enfermedades infecciosas tales como brucellosis, IBR, DBV y Leptospirosis deben estar libres de parásitos externos como nuche y garrapatas.
- Respetar los horarios y tiempos en los protocolos de sincronización y en el día de la transferencia.
- Se recomienda no someter a las receptoras luego de transferidas el embrión a factores de estrés como vacunaciones, desparasitación, movilizaciones de grandes distancias hasta el día de confirmar la preñez y termino del parto.
- Se recomienda utilizar cual quiera de las categorías de las receptoras para un programa de transferencia de embriones.



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alberio, R. (2002). [www.reprobiotec.com](http://www.reprobiotec.com/libro_rojo/capitulo_02.pdf). Obtenido de Biotecnologia de la reproduccion: http://www.reprobiotec.com/libro_rojo/capitulo_02.pdf
- Alberio, R. (Noviembre de 2009). Superovulacion y transferencias de embriones bovinos. *Manual de transferencia de embriones*. Buenos Aires, Argentina: INTA.
- Alberio, R. H. (s.f.). *Biotecnologia de la reproduccion*. Obtenido de www.reprobiotec.com
- Alvarez, P., Spicer , L., Chase , J., Payton , M., Hamilton, T., Stewart, R., y otros. (200). Ovarian and endocrine characteristics during the estrous cycle in Angus, Brahman and Senepol cows in a subtropical environment. *Journal of Animal Science* 78, págs. 1291-1302.
- Ambrose, J. D., Drost , R. L., Monson , J. J., Rutledge, M., Leibfried-Rutledge, M. J., Tratcher, T., y otros. (1999). Efficacy of timed embryo transfer with fresh and frozen in vitro produced embryos to increased pregnancy rates in heat-stressed dairy cattle . *J. DairySci*, págs. 2369-2376.
- Arlotto, J., Schwartz, J. L., First, N. L., & Leibfried - Rutledge, M. L. (1996). Aspects of follicle and oocyte stage that affect in vitro maturation and development of bovine oocytes. *Theriogenology* v. 45, págs. 943-956.
- Baruselli, P. (2001). Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices. *Theriogenology* 55.
- Baruselli, P., de Sá Filho, M., Martins, C., Reis, E., Nasser, L., & Bó, G. (2005). Nuevos avances en los tratamientos de super ovulación en donadoras de embriones. Memorias, Congreso internacional de reproducción bovina , Bogotá. *Laboratorio Intervet*, págs. 139-154.
- Bastos, M., Meschiatti, M., Surjus, R., Prata, A., Lemes, A., Guardieiro, M., y otros. (2012). Estrus length and intensity in Bos taurus (Holstein)v. Bos indicus



(Nelore) nonlactating cows. *Reproduction, Fertility and Development* 23 , pág. 100.

Bó, G., Berfegfet, D., Brogliatti, G., Pierson, R. and Mapletoft, R. 1996. Sistemic Vs. local effect of exogenous estradiol on follicular development in heifers. *Theriogenology*. 45, 1: 333.

Bó. (2013). 10 Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba: IRAC.

Bó, G., Baruselli, P., Moreno, D., Cutaia, L., Caccia, M., Tribulo, R., y otros. (2002). *The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle*. . *Theriogenology*: 57, 1: 53-72.

Bó, G., Moreno, D., Cuaita, L., & Caccia, M. (2003). Factores que afectan los porcentajes de preñez en los programas de transferencia de embriones.

Bó, G., Moreno, D., Cuaita, L., & Caccia, M. (2003). *Factores que afectan los porcentajes de preñez en los programas de transferencia de embriones*. Bogotá Colombia.

Boland, M. P., Crosby, T. T., & Gordon, I. (1976). Unpublished data cited by Gordon, I. Cattle twinning by the egg transfer approach. In: Egg transfer in cattle. En *Commission of the European Communities*, (págs. 305-319.). Luxemburg : ROWSON, L.E.A.

Carvalho, J., Reis , E., Nichi , M., Souza, A., & Baruselli, P. (s.f.). Efect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in Bos indicus, Bosindicus x Bos taurus, and Bos taurus heifers. *Theriogenology* 69, págs. 167-175.

Chupin, D. (1988). Comunicación personal.

Coe, B., & Allrich, R. (1989). Relationship between endogenous estradiol-17 β and estrous behavior in heifers J Anim Sci. En R. A. BL Coe, *Relationship between endogenous estradiol-17 β and estrous behavior in heifers J Anim Sci* 67 (págs. 1546-1551).

De la Sota, R., Lucy, M., Staples CR, & Thatcher, W. (1993). Effects of recombinant bovine somatropin (Sometribove) on ovarian function in lactating and



- nonlactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76, págs. 1002-1013.
- Duica Amaya, A. (2010). Efecto del diámetro del folículo ovulatorio, tamaño del cuerpo lúteo y perfiles de progesterona sobre la tasa de preñez en la hembra receptora de embriones bovinos. *Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia*. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/3775/1/780174.2010.pdf>.
- Duica, A., Tovío, N., & Grajales, H. (2007). Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transplante de embriones bovinos. *Revista de Medicina Veterinaria*, págs. 107-124.
- Elsden, R. P., & Seidel, G. (1990.). Succes rates. En: *Procedures for recovery, bisection, freezing and transfer of bovine embryos*. Animal reproduction and biotechnology laboratory Colorado State University,. Fort Collins, Colorado,.
- Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce. (2009). *Superovulación y transferencia de embriones bovinos*. Buenos Aires, Balcarce INTA.
- Figueiredo, R., Barros , C., Pinheiro , O., & Sole , J. (1997). Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Theriogenology* 47, págs. 1489- 1505.
- Gimenes, L. U., Sa Filho, M. F., Carvalho, N., Torres, J., Souza, A. H., Madureira, E. H., y otros. (2008). Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology* 69, págs. 852-858.
- Ginther, O. J., Wiltbank, M. C., Fricke, P. M., Gibbons, J. R., & Kot, K. (1996). Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction*, 1187- 1194.
- Ginther, O., Knopf, L., & Kastelic, J. (1989). Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two or three follicular waves. *Journal of Reproduction and Fertility* 87, págs. 1187-1194.
- Gomez, C. (2005). *Transferencia de embriones experiencias en Colombia. Memorias de reproducción bovina*. Bogotá Colombia : INTERVET.
- Gonzales-Stagnaro, C. (2001). *Reproducción bovina*. Venezuela: Ed. Fundación Girarz.



- Gordon, I. (1976). Egg transfer by cattle approach, Cattle twinning by the egg transfer. Commission of the European Communities, Luxemburg: ROWSON, L.E.A.
- Gordon, I. (1999). *Reproducción controlada del ganado vacuno y búfalos*. Zaragoza España: Ed. Acribia.
- Gorlach, A. (1999). *Transferencia de embriones en el ganado vacuno*. . . Zaragoza España: Ed. Acribia.
- Hafez, E. (2000). Reproducción e inseminación de los animales domesticos. *Reproductive Health Center IVF/Andrology International*. Kiawah Island, South Carolina, USA: McGraw – Hill Interamericana.
- Hahn, J. (1990). Embryotransfer beim Rind - Derzeitiger Stand und Ausblick. Sonderdruck aus Zuchtwahl und Besamung 21.
- Hahn, J., Schneider, U., Romanowski, W., & Roselius, R. (1975). Ergebnisse der chirurgischen Eierübertragung am stehenden Rind. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.*
- Hasler, J. (2001). Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology* 56, págs. 1401-1415.
- Huertas, I., & Huertas, V. (1991). Manual práctico y moderno de inseminación artificiaL. *Reproducir LTDA*.
- Jimenez, C. (Septiembre de 2005). Enfermedades transmisibles por la técnica de transferencia de embriones. *Congreso Internacional de reproducción bovina*. Bogotá-Colombia: INTERVET.
- Lamb, G. C., Smith, M. F., Perry, , G. A., Atkins, J. A., Risley, M. E., Busch, D. C., y otros. (2009). *Reproductive Endocrinology and Hormonal Control of the Estrous Cycle*. North Florida: University of Florida. .
- Leiding, C. (1991). Estación de Inseminación Artificial y Transferencia de embriones de Neustadt a.d. Aisch. República Federal de Alemania: Comunicación personal.



- Lucy, M. (2006). Estrus: Basic Biology and Improving Estrous Detection. *Proc. Dairy Cattle Reproductive Conference*, (págs. 29-37).
- Luque, E., Hutter, J., & Montes, G. (1983). Regulacion hormonal de los ciclos reproductivos en la vaca. *Rev. Med. Vet* 64, págs. 190-211.
- Mapletoft, R. J., Lindsell, C. E., & Pawlyshyn, V. (1986). Effects of clenbuterol, body condition and nonsurgical embryo transfer equipment on pregnancy rates in bovine recipients. *Theriogenology*, 25: 172.
- Mitchell West, G., & Donaldson, L. E. (1984). Non-surgical Embryo transfer. En *Embryo transfer in cattle* (págs. 91-94). Lloyd E. Donaldson.
- Munar, C. J., Mujica, I., Martin, E., Irouleguy, J., Huter, S., Alonso, H., y otros. (2013). Factores que afectan la eficiencia de las receptoras en ganado lechero y de carne. *Asociacion Peruana de Reproduccion Animal*, págs. 15-22.
- Mutter, L. R., Graden, A. P., & Olds, D. (1964). Successful non-surgical bovine embryo transfer. *DIGEST* 12: 1150.
- Newcomb, R. (1982). Egg recovery and transfer in cattle. En *Mammalian egg transfer* (págs. 81-118.). CRC press, Inc.
- Oyuela, L. A. (2009). Factores que afectan la tasa de preñez en programas de transferencia de embriones producidos in-vitro, en razas cebuinas. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional.
- Palma, G. (2001). *Biología de la reproducción*. Buenos Aires, Argentina: Ed. INTA, Balcare.
- Palma, G. A., & Brem, G. (1993). Transferencia de los embriones y biotecnología de la reproducción bovina. págs. 85-86.
- Pathwardham , W., & Lanthier, A. (1976). Effect of an ovulatory dose of luteinizing hormone on the concentration of oestrone, oestradiol and progesterone in the rabbit ovarian follicle. *Acta Endocrinol* 82, págs. 792-800.



- Peters, A. (1985). Studies of hormone patterns during the oestrous cycle of beef cows. En P. AR, *Reprod Nutr Dévelop* 25 (págs. 919-927).
- Randel, R. (1976). LH and ovulation in Brahman, Brahman x Hereford and Hereford heifers. *Journal of Animal Science* 43, pág. 300.
- Rippe, C. A. (2009). El ciclo estral. 113. Minneapolis, MN Boise, ID.
- Sangsritavong, S., Combs, D., Sartori, R., Armentano , L., & Wiltbank, M. (2002). High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol 17 beta in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 85, págs. 2831- 2842.
- Sartori , R., Fricke , P. M., Ferreira , J. C., & Ginther , O. (2001). Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biology of Reproduction* 65, págs. 1403-1409.
- Sartori , R., Haughian , J., Shaver , R., Rosa , G., & Wiltbank, M. (2004). Comparison of ovarian function and circulating steroids in strous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *Journal of Dairy Science* 87, págs. 905-920.
- Segerson, E., Hansen, T., Libby, D., Randel, R., & Getz, W. (1984). Ovarian and uterine morphology and function in Angus and Brahman cows. *Journal of Animal Science* 59, págs. 1026-1046.
- Shearer, J. K. (2003). Reproductive anatomy and physiology of dairy cattle. En J. K. Shearer, *Reproductive anatomy and physiology of dairy cattle*. Florida: University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences,Animal Science Departament, EDIS.
- Simões, R., Satrapa, R., Rosa, F., Piagentini, M., Castilho, A., Ereno, R., y otros. (2009). Ovulation rate and its relationship with folliclediameter and gene expression of the LH RECEPTOR(LHR) inNelore cows . *Theriogenology* 77, págs. 139-147.
- Spell, A., Beal, W., Corah, L., & Lamb, G. (2001). "Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle". *Theriogenology* 56. págs. 287-297.



- Sreenan, , J. M., & Diskin, M. G. (1987). Factor affecting rate following embryo transfer in the cow. *Theriogenology* 27.
- Stingfellow, D. (2000). Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (I.E.T.S.). Illinois USA.
- Straßberger, G. (1982). Die Plazierung des Embryos im Uterus. En *Verfahren und Probleme des Embryotransfers beim Rind* (págs. 59-60). Zulassungsarbeit. Weihenstephan.
- Stroud, B., & Hasler , J. F. (2006). Dissecting why superovulation and embryo transfer usually work on some farms but not on others. *Theriogenology* 65, págs. 65-76.
- Takeda, T., Hallowell, S. V., McKauley, .. A., & Hasler, J. F. (1986). Pregnancy rates with intact and Split bovine embryos transferred surgically and non-surgically. En *Theriogenology* 25 (pág. 204).
- Tervit, H. R., Cooper, M. W., Goold, P. G., & Haszar, G. M. (1980). Non-surgical embryo transfer in cattle. *Theriogenology*, 10.
- Tervit, H. R., Cooper, M. W., Goold, P. G., & Haszar, G. M. (1980). Non-surgical embryo transfer in cattle. En *Theriogenology* (págs. 63-71).
- Tribulo, H. (2002). Curso de post-grado en reproducción bovina. Modulo IV. *Transferencia de embriones. CGR. Biotecnología reproductiva.* Cap. 1 y 2.
- Wenkoff, M. (1986). The effect of Clenbuterol on pregnancy rates in bovine recipients after nonsurgical transfer. *Theriogenology*. 25: 214.
- Willet, E. L., Black, W. G., Casida, L. ,., & Stone, W. (1951). *Successfull transplantation of a fertilized bovine ova.*
- Wiltbank, M., Güme, A., & Sartory, R. (2006). Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. En A. G. M.C Wiltbank, *Physiological classification of anovulatory conditions in cattle Proc. Bovine Reproduction: Education and Discussion. Solutions for the Practicing Veterinarian.* (págs. 93-125).



ANEXOS

Anexo 1. Frecuencias observadas y esperadas de preñez por categoría, de la prueba de Chi cuadrado

		Diagnóstico			Total	
		Preñada	Vacía	Preñada		
Categoría	Novilla	o	11	9	20	
		e	13,0	7,0	20,0	
	Primer parto	o	13	7	20	
		e	13,0	7,0	20,0	
	Multípara	o	15	5	20	
		e	13,0	7,0	20,0	
Total		o	39	21	60	
		e	39,0	21,0	60,0	

Anexo 2. Pruebas de Chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig.asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	1,758 ^a	2	,415
Razón de verosimilitud	1,777	2	,411
Asociación lineal por lineal	1,729	1	,189
N de casos válidos	60		

a. 0 casillas (.0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 7.00

Anexo 3. Test de normalidad para estructuras foliculares y niveles de progesterona en sangre según diagnóstico de preñez.

	Preñez	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk ^a		
		gl	Z	Sig.	Gl	Z	Sig.
Folículo (mm)	Preñada	39	0,194	0,001	39	0,914	0,006
	Vacía	21	0,193	0,040	21	0,900	0,035
Cuerpo lúteo (mm)	Preñada	39	0,161	0,013	39	0,958	0,150
	Vacía	21	0,173	0,103	21	0,876	0,013
Progesterona (ng/ml-P4)	Preñada	39	0,205	0	39	0,862	0,000
	Vacía	21	0,243	0,002	21	0,72	0,000

Anexo 4. Prueba de Mann Whitney para relación de estructuras con la preñez.

	Diagnóstico de preñez	Rango promedio	Suma de rangos
Folículo (mm)	Preñada	33,40	1302,5
	Vacía	25,12	527,5
Cuerpo lúteo (mm)	Preñada	34,77	1356
	Vacía	22,57	474
Progesterona (ng/ml-P4)	Preñada	37,42	1459,5
	Vacía	17,64	370,5



Anexo 5. Estadísticos de la prueba de Mann Whitney

	Cuerpo Folículo (mm)	lúteo (mm)	Progesteron a (ng/ml-P4)
U de Mann-Whitney	296,500	243,000	139,500
Z	-1,790	-2,616	-4,185
Sig. asintótica (bilateral)	,073	,009	,000

a. Variable de agrupación: Diagnóstico de preñez

Anexo 6. Prueba de Kruskal Wallis para relación de estructuras con categorías.

Variables	Categoría	N	Rango promedio
Folículo (mm)	Novilla	20	32,85
	Primer parto	20	27,8
	Multípara	20	30,85
	Total	60	
Cuerpo lúteo (mm)	Novilla	20	33,03
	Primer parto	20	28,13
	Multípara	20	30,35
	Total	60	
Progesterona (ng/ml- P4)	Novilla	20	34,4
	Primer parto	20	25,48
	Multípara	20	31,63
	Total	60	



Anexo 7. Estadísticos de la prueba de Kruskal Wallis.

	Folículo (mm)	Cuerpo lúteo (mm)	Progesterona (ng/ml-P4)
Chi-cuadrado	0,886	0,811	2,736
gl	2	2	2
Sig. asintótica	0,642	0,667	0,255

a Prueba de Kruskal Wallis

b Variable de agrupación: Categoría


Anexo 8 Ficha de Campo Cantón Huamboya (Libertad).

PROPIETARIO:		LUGAR:			FECHA: T.E
Dr. Miguel Zambrano Escobar		HUAMBOYA – LIBERTAD			14- Octubre – 2015
Nº o Nombre receptora	CATEGORIA	Tamaño – Folículo D-O- FECHA - CELO	Tamaño – Cuerpo Lúteo TE- EMBRION D-7 FECHA	EX – SANGRE NG/ML – P4 D-7 FECHA	DIAGNÓSTICO – PREÑEZ FECHA D-45
1.- Zoila	Novilla	14 mm 7-10- 2015	15-16 mm T.E. CHAROLAIS 14-10-15	7.85	VACIA 21-11-2015
2.- 3568	2º parto	18-20 mm 7-10- 2015	16 mm T.E. CHAROLAIS 14-10-15	11.45 14-OCT- 2015	PREÑADA 21-11-2015
3.- Mayra	2º parto	15 mm 7-10- 2015	18-20 mm T.E. CHAROLAIS 14-10-15	10.87 14-OCT- 2015	PREÑADA 21-11-2015
4.- Vaca Se	1º parto	17 mm 7-10- 2015	19-20 mm T.E. CHAROLAIS 14-10-15	12,19 14-OCT- 2015	PREÑADA 21-11-2015


Anexo 9. Ficha de campo Cantón Huamboya (Huambuchentza).

PROPIETARIO:		LUGAR:			FECHA: T.E.	
Sr. Gustavo Mora Poveda		Km 6 – Vía Macas HUAMBOYA - HUAMBUCHENTZA			16- Octubre – 2015	
Nº o Nombre receptora	CATEGORIA	Tamaño – Foliculo D-O- FECHA – CELO	Tamaño – Cuerpo Lúteo TE-EMBRION D-7 FECHA	EX – SANGRE NG/ML – P4 D-7 FECHA	DIAGNÓSTICO – PREÑEZ FECHA D-45	
5.- Bs Mora	3º Parto	14 mm 9-10-2015	18-20 mm T.E. CHAROLAIS 16-10-15	8,15 16-OCT- 2015	PREÑADA 23-11-2015	
6.- 210	5º Parto	15 mm 9-10-2015	16-17 mm T.E. CHAROLAIS 16-10-15	9,39 16-OCT- 2015	PREÑADA 23-11-2015	
7.- 269	4º Parto	17 mm 9-10-2015	20 mm T.E. CHAROLAIS 16-10-15	7,16 16-OCT- 2015	PREÑADA 23-11-2015	
8.- 65	Novilla	16 mm 9-10-2015	20 mm T.E. CHAROLAIS 16-10-15	6,73 16-OCT- 2015	VACIA 23-11-2015	
9.- 9822	2º Parto	15 mm 9-10-2015	17 mm T.E. CHAROLAIS 16-10-15	5,84 16-OCT- 2015	VACIA 23-11-2015	



Anexo 10. Ficha de Campo Cantón Morona (Uyuntza).

PROPIETARIO:		LUGAR:			FECHA: <u>T.E.</u>
Sr. Silvio Cárdenas		MORONA – UYUNTZA KM 12 – VIA MACAS - PUYO			20- Octubre – 2015
Nº o Nombre receptora	CATEGORIA	Tamaño – Folículo D-O- FECHA – CELO	Tamaño – Cuerpo Lúteo TE-EMBRION D-7 FECHA	EX – SANGRE NG/ML – P4 D-7 FECHA	DIAGNÓSTICO – PREÑEZ D-45 FECHA
10.- Vaca Tempo	2º Parto	16 mm 13-10-2015	20-21 mm T.E. CHAROLAIS 20-10-15	11,56 20-OCT-2015	PREÑADA 27-11-2015
11.- Vaca Ternois	2º Parto	15 mm 13-10-2015	20 mm T.E. CHAROLAIS 20-10-15	10,36 20-OCT-2015	PREÑADA 27-11-2015
12.- Rosalie	Novilla	17 mm 13-10-2015	19 mm T.E. CHAROLAIS 20-10-15	12,70 20-OCT-2015	PREÑADA 27-11-2015
13.- Vikie	Novilla	16 mm 13-10-2015	22 mm T.E. CHAROLAIS 20-10-15	11,98 20-OCT-2015	PREÑADA 27-11-2015



Anexo 11. Ficha de campo Cantón Palora (Sangay).

PROPIETARIO:		LUGAR:		FECHA: T.E.	
Ing. Mauricio Cisneros		PALORA – KM 8 – VIA A SANGAY		14- Noviembre – 2015	
Nº o Nombre receptora	CATEGORIA	Tamaño – Folículo D-O- FECHA – CELO	Tamaño – Cuerpo Lúteo TE- EMBRION D-7 FECHA	EX – SANGRE NG/ML – P4 D-7 FECHA	DIAGNÓSTICO – PREÑEZ D-45 FECHA
14.- V – 8 HI-PINTA	3º Parto	16 mm 7-11- 2015	21 mm T.E. CHAROLAIS 14-11-15	8,70	PREÑADA 22-12-2015
15.- CH - 01	2º Parto	15 mm 7-11- 2015	20 mm T.E. CHAROLAIS 14-11-15	8,40	PREÑADA 22-12-2015
16.- CH - 99	1º Parto	15 mm 7-11- 2015	23 mm T.E. CHAROLAIS 14-11-15	10,12	PREÑADA 22-12-2015
17.- CH - 46	Novilla	14 mm 7-11- 2015	20 mm T.E. CHAROLAIS 14-11-15	12,21	VACIA 22-12-2015
18.- CH – 33	Novilla	16 mm 7-11- 2015	18 mm T.E. CHAROLAIS 14-11-15	9,78	VACIA 22-12-2015



Anexo 12. Ficha de campo Cantón Huamboya (Libertad).

PROPIETARIO:		LUGAR:		FECHA: T.E		
Dr. Miguel Zambrano Escobar		HUAMBOYA – LIBERTAD		14- Octubre – 2015		
Nº o Nombre receptora		CATEGORIA	Tamaño – Folículo D-O- FECHA – CELO	Tamaño – Cuerpo Lúteo TE-EMBRION D-7 FECHA	EX – SANGRE NG/ML – P4 D-7 FECHA	DIAGNOSTICO – PREÑEZ D-45 FECHA
20.- ROTO- CACHO-650	1º Parto	15 mm 7-11- 2015	16 mm T.E. CHAROLAIS 14-11-15	8,78	PRENADA	22-12-2015
21.- SIMENTAL – 160	4º Parto	16 mm 7-11- 2015	22 mm T.E. CHAROLAIS 14-11-15	12,67	PRENADA	22-12-2015
22.- 152-BS	1º Parto	17 mm 7-11- 2015	20 mm T.E. CHAROLAIS 14-11-15	8,31	PRENADA	22-12-2015
23.- 260- TERESA	1º Parto	14 mm 7-11- 2015	16 mm T.E. CHAROLAIS 14-11-15	6,22	VACIA 3-CUERPOS LUTEOS	22-12-2015



Anexo 13. Ficha de Campo Cantón Huamboya (Vía a Macas KM 4).

PROPIETARIO: Sr. Juan Montenegro Cárdenas		LUGAR: HUAMBOYA VIA MACAS KM 4		FECHA: T.E 14- MARZO – 2016	
Nº o Nombre receptora	CATEGORIA	Tamaño – Folículo D-O- FECHA – CELO	Tamaño – Cuerpo Lúteo TE- EMBRION D-7 FECHA	EX – SANGRE NG/ML – P4 D-7 FECHA	DIAGNOSTICO – PREÑEZ D-45 FECHA
24.- 805	1º Parto	15 mm 7-03- 2016	18 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	7,02	PRENADA 21-04-2016
25.- 632- MADRE	4º Parto	17 mm 7-03- 2016	20 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	7,75	VACIA 21-04-2016
26.- CH- 631	1º Parto	14 mm 7-03- 2016	17 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	7,60	PRENADA 21-04-2016
27.- CH- CIEGA	1º Parto	17 mm 7-03- 2016	21 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	9,18	PRENADA 21-04-2016
28.- 722	1º Parto	16 mm 7-03- 2016	18 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	7,43	PRENADA 21-04-2016



Anexo 14. Ficha de Campo Cantón Huamboya (Vía Macas KM 4).

PROPIETARIO:		LUGAR:		FECHA: T.E	
Sr. Juan Montenegro Cárdenas		HUAMBOYA VIA MACAS KM 4		14- MARZO – 2016	
Nº o Nombre receptora	CATEGORIA	Tamaño – Folículo D-O- FECHA – CELO	Tamaño – Cuerpo Lúteo TE-EMBRION D-7 FECHA	EX – SANGRE NG/ML – P4 D-7 FECHA	DIAGNOSTICO – PREÑEZ D-45 FECHA
29.- 632 HUA-# 137	1º Parto	14 mm 7-03- 2016	17 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	5,64	VACIA 21-04-2016
30.- 824	1º Parto	16 mm 7-03- 2016	21 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	7,51	VACIA 21-04-2016
31.-LIBOB	1º Parto	15 mm 7-03- 2016	19 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	6,89	PRENADA 21-04-2016
32.- 815	1º Parto	15 mm 7-03- 2016	20 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	6,67	VACIA 21-04-2016
33.- 193	NOVILLA	16 mm 7-03- 2016	22 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	6,99	PRENADA 21-04-2016



Anexo 15. Ficha de campo Cantón Huamboya (Najenbaime KM 2).

PROPIETARIO:		LUGAR:		FECHA: T.E	
Dr. Henry Geovanny Montenegro Merchán			HUAMBOYA- NAJENBAIME KM 2	14- MARZO – 2016	
Nº o Nombre receptora	CATEGORIA	Tamaño – Foliculo	Tamaño – Cuerpo Lúteo TE-EMBRION	EX – SANGRE NG/ML – P4	DIAGNOSTICO – PREÑEZ D-45 FECHA
34.- # 169	1º Parto	13 mm 7-03- 2016	17 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	5,79	VACIA 21-04-2016
35.- # 725	1º Parto	16 mm 7-03- 2016	21 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	21,14	PRENADA 21-04-2016
36.- # 601	1º Parto	18 mm 7-03- 2016	23 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	24,95	PRENADA 21-04-2016
37.- # 736	1º Parto	14 mm 7-03- 2016	17 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	6,34	VACIA 21-04-2016
38.- # 92	NOVILLA	15 mm 7-03- 2016	20 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	19.11	PRENADA 21-04-2016



Anexo 16. Ficha de campo Cantón Huamboya (Najembaimé KM2).

PROPIETARIO:		LUGAR:		FECHA: T.E	
Dr. Henry Geovanny Montenegro Merchán		HUAMBOYA- NAJENBAIME KM 2		14- MARZO – 2016	
Nº o Nombre receptora	CATEGORIA	Tamaño – Folículo D-O- FECHA – CELO	Tamaño – Cuerpo Lúteo TE-EMBRION D-7 FECHA	EX – SANGRE NG/ML – P4 D-7 FECHA	DIAGNOSTICO – PREÑEZ D-45 FECHA
39.- # 808	NOVILLA	16 mm 7-03- 2016	22 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	19,79	PRENADA
40.- # 632	1º Parto	17 mm 7-03- 2016	23 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	20,33	PRENADA
41.- MILLIONAIRE 1	NOVILLA	18 mm 7-03- 2016	21 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	17,38	PRENADA
42.- MILLIONAIRE 2	NOVILLA	16 mm 7-03- 2016	22 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	18,85	PRENADA
43.- VIRIL	NOVILLA	19 mm 7-03- 2016	24 mm T.E. CHAROLAIS 14-03-16	18,46	VACIA



Anexo 17. Ficha de campo Cantón Morona (Uyuntza).

PROPIETARIO:		LUGAR:		FECHA: T.E	
Sr. Silvio Cárdenas		MORONA – UYUNTZA KM 12 VÍA MACAS - PUYO		18- MARZO – 2016	
Nº o Nombre receptora	CATEGORIA	Tamaño – Folículo D-O- FECHA – CELO	Tamaño – Cuerpo Lúteo TE-EMBRION D-7 FECHA	EX – SANGRE NG/ML – P4 D-7 FECHA	DIAGNÓSTICO – PREÑEZ D-45 FECHA
44.- HC- 35 RITMO	3º PARTO	16 mm 11-03-2016	22 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	15,18 18-03- 2016	PREÑADA 25-04-2016
45.- CH - 43 A.N.	4º Parto	15 mm 11-03-2016	24 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	8,90 18-03- 2016	PREÑADA 25-04-2016
46.- CH - 50	4º PARTO	17 mm 11-03-2016	20 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	19,36 18-03- 2016	PREÑADA 25-04-2016
47.- CH - 54	3º PARTO	18 mm 11-03-2016	21 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	20,40 18-03- 2016	PREÑADA 25-04-2016
48.- PV - 06	3º PARTO	19 mm 11-03-2016	19 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	12,14 18-03- 2016	PREÑADA 25-04-2016



Anexo 18. Ficha de Campo Cantón Morona (Uyuntza).

PROPIETARIO:		LUGAR:		FECHA: T.E	
Sr. Silvio Cárdenas		MORONA – UYUNTZA KM 12 VÍA MACAS - PUYO		18- MARZO – 2016	
Nº o Nombre receptora	CATEGORIA	Tamaño – Foliculo D-O- FECHA – CELO	Tamaño – Cuerpo Lúteo TE- EMBRION D-7 FECHA	EX – SANGRE NG/ML – P4 D-7 FECHA	DIAGNOSTICO – PREÑEZ D-45 FECHA
49.- HC – 05	3º PARTO	15 mm 11-03- 2016	18 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	7,6	VACIA 25-04-2016
50.- CH – 33	3º Parto	14 mm 11-03- 2016	17 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	6,37	VACIA 25-04-2016



Anexo 19. Ficha de Campo Cantón Pablo Sexto (Vía Palora KM 6).

PROPIETARIO: Sr. Claudio Ruperto Guamán G.		LUGAR: KM 6 VÍA PALORA PABLO SEXTO			FECHA: T.E 18- MARZO – 2016
Nº o Nombre receptora	CATEGORIA	Tamaño – Folículo D.O- FECHA – CELO	Tamaño – Cuerpo Lúteo TE- EMBRION D.7 FECHA	EX – SANGRE NG/ML – P4 D.7 FECHA	DIAGNOSTICO – PREÑEZ D.45 FECHA
51.- 700- RG	NOVILLA	15 mm 11-03- 2016	18 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	9,45	PRENADA 25-04-2016
52.- 705- RG	NOVILLA	16 mm 11-03- 2016	19 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	8,73	VACIA 25-04-2016
53.- 704- RG	NOVILLA	19 mm 11-03- 2016	17 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	6,91	VACIA 25-04-2016
54.- 703- RG	NOVILLA	17 mm 11-03- 2016	20 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	7,38	VACIA 25-04-2016
55.- 708- RG	NOVILLA	15 mm 11-03- 2016	21 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	9,56	PRENADA 25-04-2016



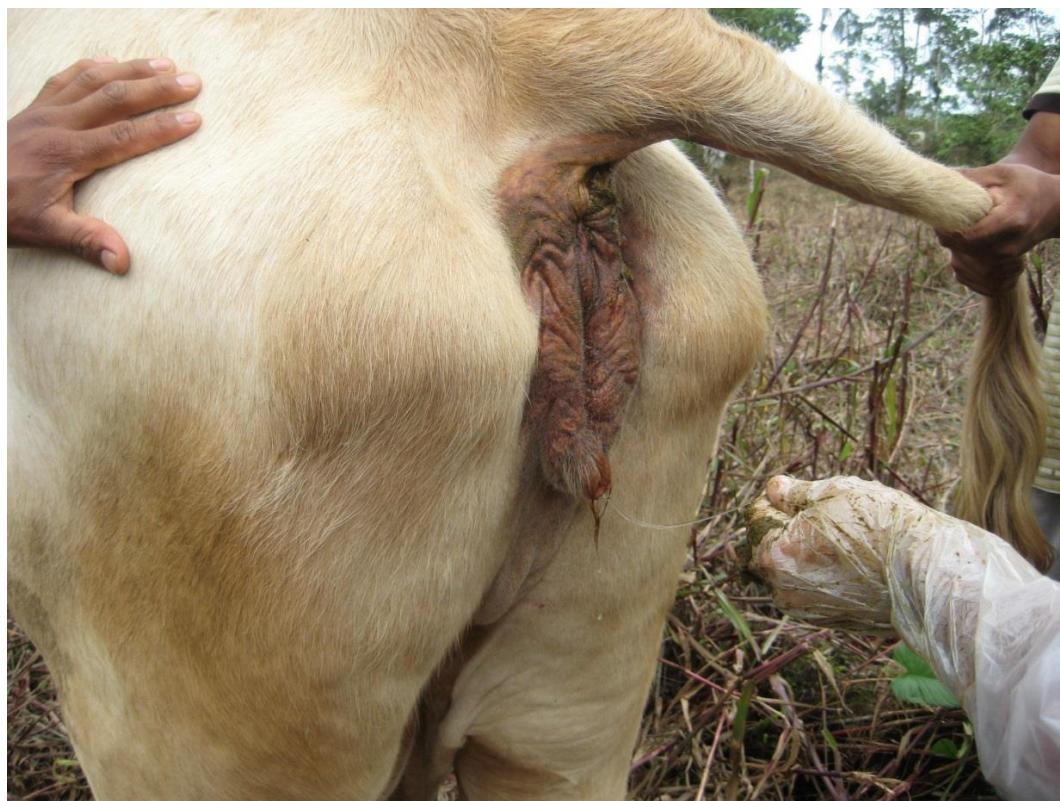
Anexo 20. Ficha de Campo Cantón Pablo Sexto (Vía Palora Km 6).

PROPIETARIO:		LUGAR:		FECHA: T.E	
Sr. Claudio Ruperto Guamán G.		KM 6 VÍA PALORA PABLO SEXTO		18- MARZO – 2016	
Nº o Nombre receptora	CATEGORIA	Tamaño – Foliculo – CELO	Tamaño – Cuerpo Lúteo D-7 FECHA	EX – SANGRE NG/ML – P4 D-7 FECHA	DIAGNÓSTICO – PREÑEZ D-45 FECHA
56.- 707-RG	NOVILLA	16 mm 11-03-2016	20 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	10,25 18-03- 2016	PREÑADA 25-04-2016
57.- 709-RG	NOVILLA	14 mm 11-03-2016	18 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	6,09 18-03- 2016	VACIA 25-04-2016
58.- 710-RG	NOVILLA	18 mm 11-03-2016	23 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	12,68 18-03- 2016	PREÑADA 25-04-2016
59.- 750-RG	1º PARTO	17 mm 11-03-2016	19 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	9,72 18-03- 2016	PREÑADA 25-04-2016
60.- 752-RG	1º PARTO	18 mm 11-03-2016	24 mm T.E. CHAROLAIS 18-03-16	11,29 18-03- 2016	VACIA 25-04-2016

Anexo 21. Preparación de las receptoras.

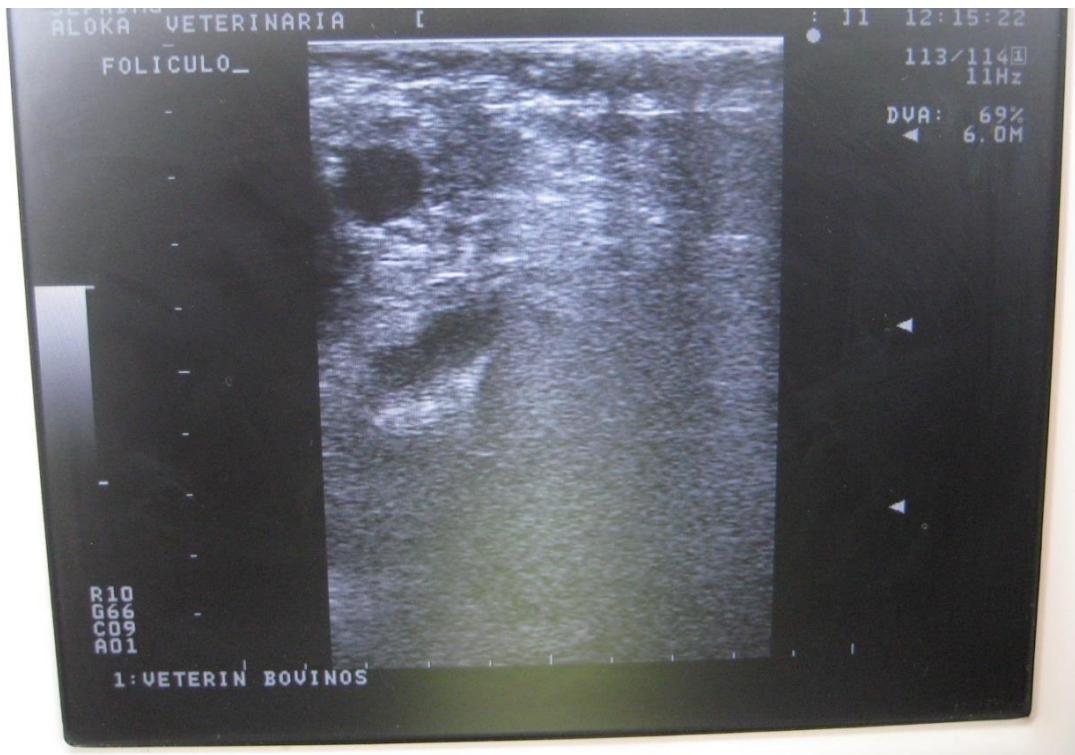


Anexo 22. Evaluación de receptora en el día 0 del celo sincronizado.

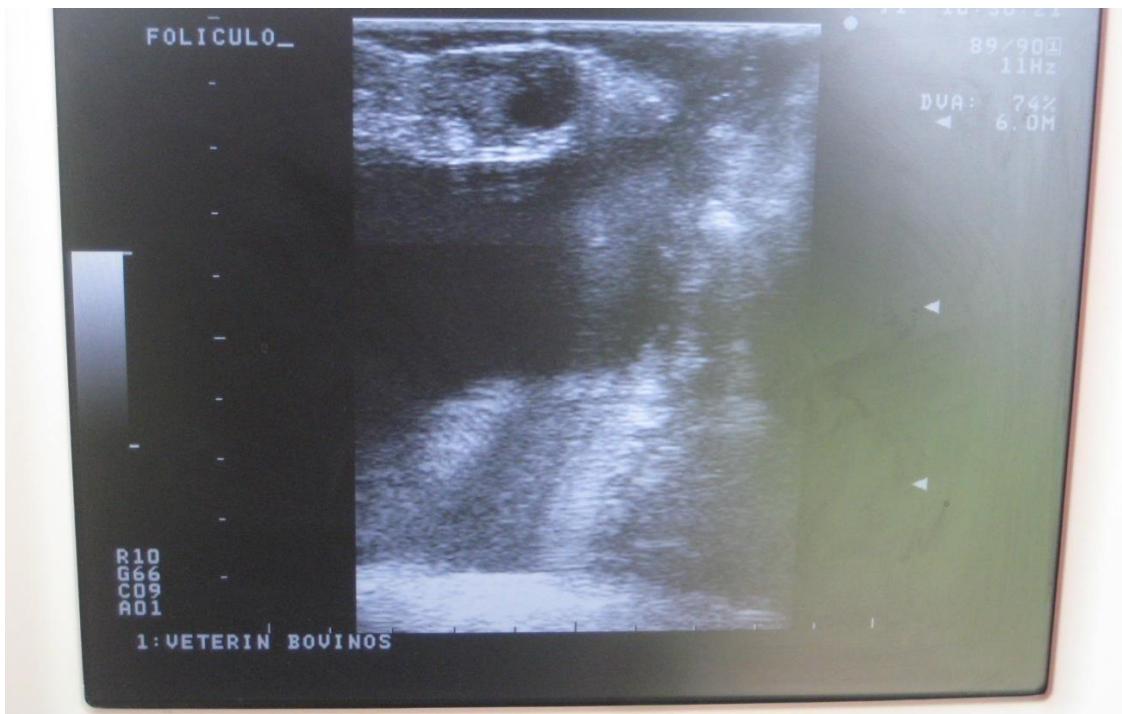




Anexo 23. Evaluación del tamaño del folículo 1.



Anexo 24. Evaluación del tamaño del folículo 2.

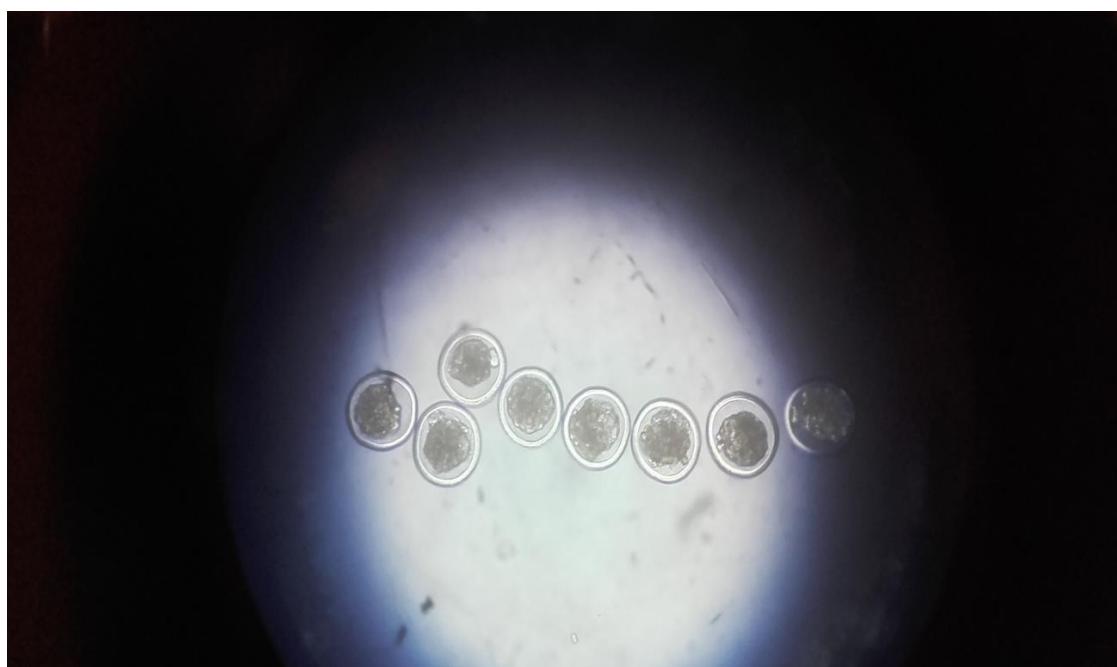




Anexo 25. Equipo de trasferencia de embriones.



Anexo 26. Embriones frescos para transferir.



Anexo 20. Evaluación tracto reproductivo por ultrasonografía.



Anexo 21. Transferencia del embrión.



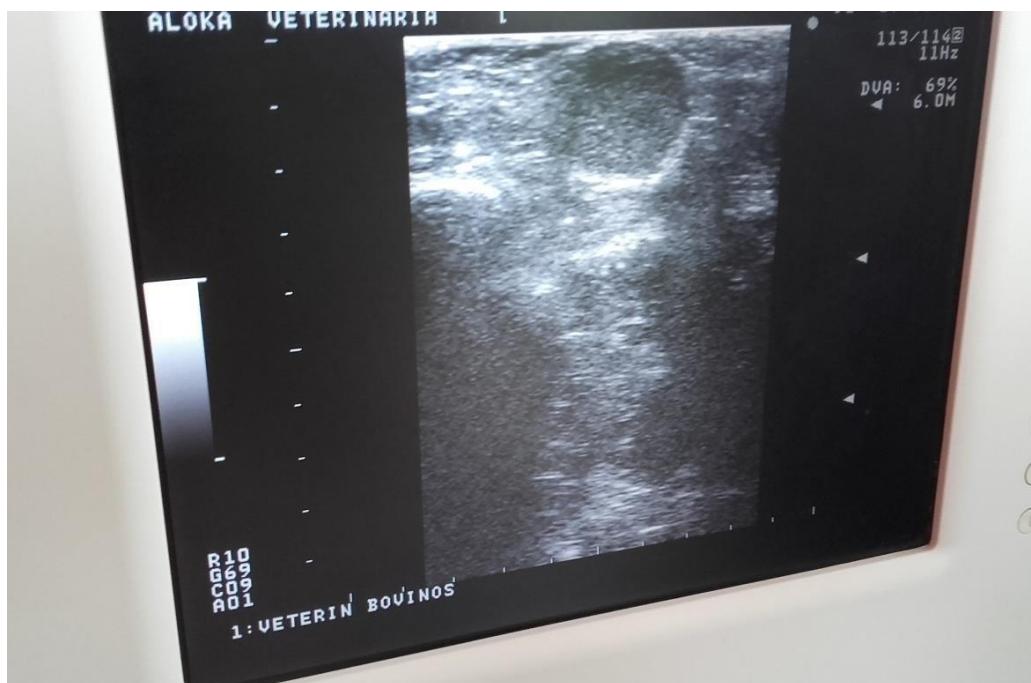
Anexo 27. Toma de muestra de sangre para medir niveles de progesterona 1.



Anexo 28. Toma de muestra de sangre para medir niveles de progesterona 2.



Anexo 29. Evaluación del cuerpo lúteo 2



Anexo 30. Receptora preñada 1



Anexo 31. Receptora preñada 2





Anexo 32. Resultados de Exámenes de sangre Sector Morona-Uyuntza.



REPORTE DE RESULTADOS

Caso: 15-2854

Fecha de recepción: 2015-10-21

Fecha de reporte: 2015-10-27

Hora de recolección: 2:00 (2015-10-20)

Temp. De las muestras: 2°C

Hora de recepción: 1:00

Propietario: Sr. Silvio Cardenas Cardenas

Hacienda: -----

Teléfono: 0991199209

Dirección: Morona Uyuntza Km 12 - Vía Macas - Puyo

drjhonm74@yahoo.com

Provincia: Morona Santiago Canton: Morona

Parroquia: Macas

Remitente: Dr. Jhon Montenegro

Muestras tomadas por: Dr. Jhon Montenegro

Número de muestras: 4 sueros

Especie: Bovina

Raza: Mestiza

Sexo: Hembra

Edad: Varias

RESULTADOS

Examen Solicitado: Progesterona

Técnica: Elisa

Código	Identificación	Resultado
		(ng/ml)
1	Vaca Tempo	11,56
2	Vaca Ternois	10,36
3	Rosalie	12,70
4	Vikie	11,98

✓ El cliente manifiesta que las muestras se mantuvieron en refrigeración y se transportó en cadena de frío.

Valores de Referencia para Progesterona

ESTRO (F. Folicular): 0,2 - 1,5 ng/ml

METAESTRO (F. Ovulatoria): 0,9 - 3,2 ng/ml

DIESTRO (F. Luteína): 3,8 - 16,5 ng/ml

PROESTRO: 1,4 - 2,8 ng/ml

✓ El cliente manifiesta que las muestras se mantuvieron en refrigeración

NOTA: Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.

Mcrb. María José Sánchez Ayala

Jefe de Laboratorio

* Prohibida la reproducción total o parcial del presente reporte sin la autorización escrita de
Vetelab Cía. Ltda.

D: Sucre N-47 y José Mejía (Machachi - Ecuador)
T: (02) 2316722 C: 099 879 3956 (movil) 098 360 6731 (claro)
E: info@vetelab.net • laboratorio@vetelab.net W: www.vetelab.net

Pág 1 de 1

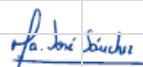


Anexo 33. Resultados de Exámenes de sangre Cantón Huamboya (Libertad).

		 Acreditación N° OAE LE C 14-006 LABORATORIO DE ENSAYO	
REPORTE DE RESULTADOS			
Caso: 15-2811			
Fecha de recepción: 2015-10-15			
Fecha de reporte: 2015-10-19			
Hora de recolección: 10:00 (2015-10-14)		Temp. De las muestras: 2°C	
Hora de recepción: 13:30			
Propietario: Sr. Miguel Zambrano Escobar			
Hacienda: -----		Teléfono: 0991199209	
Dirección: Vía a la Libertad		drjhonm74@yahoo.com	
Provincia: Morona Santiago	Canton: Huamboya	Parroquia: Huamboya	
Remitente: Dr. Jhon Montenegro			
Muestras tomadas por: Dr. Jhon Montenegro			
Número de muestras: 4 sueros		Especie: Bovina	
		Raza: Mestizo	
		Sexo: Hembra	
		Edad: Varias	
RESULTADOS			
Examen Solicitado: Progesterona			
Técnica: Elisa			
Código	Identificación	Resultado (ng/ml)	
1	Zoila	7,85	
2	3568	11,45	
3	Mayra	10,87	
4	Vaca Seco 1	12,19	
<input checked="" type="checkbox"/> El cliente manifiesta que las muestras se mantuvieron en refrigeración y se transportó en cadena de frío.			
Valores de Referencia para Progesterona			
ESTRO (F. Folicular):		0,2 - 1,5 ng/ml	
METAESTRO (F. Ovulatoria):		0,9 - 3,2 ng/ml	
DIESTRO (F. Luteína):		3,8 - 16,5 ng/ml	
PROESTRO:		1,4 - 2,8 ng/ml	
<input checked="" type="checkbox"/> El cliente manifiesta que las muestras se mantuvieron en refrigeración			
NOTA: Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.			
 <i>Mrcb. María José Sánchez Ayala</i> Jefe de Laboratorio			
* Prohibida la reproducción total o parcial del presente reporte sin la autorización escrita de			
Vetelab Cía. Ltda.			
D: Sucre N-47 y José Mejía (Machachi - Ecuador) T: (02) 2316722 - C: 099 679 3956 (movil) 098 360 6731 (celular) E: info@vetelab.net • laboratorio@vetelab.net W: www.vetelab.net		Pág 1 de 1	

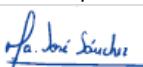


Anexo 34. Resultados de sangre Cantón Huamboya (Huambuchense).

		 Acreditación N° QAE LE C 14-006 LABORATORIO DE PRUEBAS																					
REPORTE DE RESULTADOS																							
Caso: 15-2833																							
Fecha de recepción: 2015-10-19																							
Fecha de reporte: 2015-10-23																							
Hora de recolección: 11:00 (2015-10-16)		Temp. De las muestras: 2°C																					
Hora de recepción: 12:00																							
Propietario: Sr. Gustavo Mora Poveda																							
Hacienda: -----		Teléfono: 0991199209																					
Dirección: Huamboya Huambuchense																							
Provincia: Morona Santiago	Canton: Huamboya	Parroquia: Huamboya																					
Remitente: Dr. Jhon Montenegro																							
Muestras tomadas por: Dr. Jhon Montenegro																							
Número de muestras: 5 sueros	Especie: Bovina Raza: Mestizo Sexo: Hembra Edad: Varias																						
RESULTADOS																							
Examen Solicitado: Progesterona																							
Técnica: Elisa																							
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="2"></th> <th style="text-align: center;">Resultado</th> </tr> <tr> <th style="text-align: center;">Código</th> <th style="text-align: center;">Identificación</th> <th style="text-align: center;">(ng/ml)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">1</td> <td>Vs Mora</td> <td style="text-align: center;">8,15</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">2</td> <td>210</td> <td style="text-align: center;">9,39</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">3</td> <td>269</td> <td style="text-align: center;">7,16</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">4</td> <td>65</td> <td style="text-align: center;">6,73</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">5</td> <td>9822</td> <td style="text-align: center;">5,84</td> </tr> </tbody> </table>					Resultado	Código	Identificación	(ng/ml)	1	Vs Mora	8,15	2	210	9,39	3	269	7,16	4	65	6,73	5	9822	5,84
		Resultado																					
Código	Identificación	(ng/ml)																					
1	Vs Mora	8,15																					
2	210	9,39																					
3	269	7,16																					
4	65	6,73																					
5	9822	5,84																					
<input checked="" type="checkbox"/> El cliente manifiesta que las muestras se mantuvieron en refrigeración y se transportó en cadena de frío.																							
Valores de Referencia para Progesterona																							
ESTRO (F. Folicular):	0,2 - 1,5 ng/ml																						
METAESTRO (F. Ovulatoria):	0,9 - 3,2 ng/ml																						
DIESTRO (F. Luteínica):	3,8 - 16,5 ng/ml																						
PROESTRO:	1,4 - 2,8 ng/ml																						
<input checked="" type="checkbox"/> El cliente manifiesta que las muestras se mantuvieron en refrigeración																							
NOTA: Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.																							
 Mrcb. María José Sánchez Ayala Jefe de Laboratorio																							
* Prohibida la reproducción total o parcial del presente reporte sin la autorización escrita de Vetelab Cía. Ltda.																							
D: Sucre N-47 y José Mejía (Machachi - Ecuador) T: (02) 2016722 - Q: 099-879-3356 (movi) - 098-360-6731 (claro) E: info@vetelab.net • laboratorio@vetelab.net W: www.vetelab.net																							
Pág 1 de 1																							



Anexo 35. Resultados de Exámenes de sangre Cantón Morona (Uyuntza).

		 Acreditación N° OAE LE C 14-006 LABORATORIO DE ENSAYO	
REPORTE DE RESULTADOS			
Caso: 15-2854			
Fecha de recepción: 2015-10-21			
Fecha de reporte: 2015-10-27			
Hora de recolección: 2:00 (2015-10-20)		Temp. De las muestras: 2°C	
Hora de recepción: 1:00			
Propietario: Sr. Silvio Cardenas Cardenas			
Hacienda: -----		Teléfono: 0991199209	
Dirección: Morona Uyuntza Km 12 - Vía Macas - Puyo		drjhonm74@yahoo.com	
Provincia: Morona Santiago	Canton: Morona	Parroquia: Macas	
Remitente: Dr. Jhon Montenegro			
Muestras tomadas por: Dr. Jhon Montenegro			
Número de muestras: 4 sueros		Especie: Bovina	
		Raza: Mestiza	
		Sexo: Hembra	
		Edad: Varias	
RESULTADOS			
Examen Solicitado: Progesterona			
Técnica: Elisa			
Código	Identificación	Resultado (ng/ml)	
1	Vaca Tempo	11,56	
2	Vaca Ternois	10,36	
3	Rosalie	12,70	
4	Vikie	11,98	
<input checked="" type="checkbox"/> El cliente manifiesta que las muestras se mantuvieron en refrigeración y se transportó en cadena de frío.			
Valores de Referencia para Progesterona			
ESTRO (F. Folicular):		0,2 - 1,5 ng/ml	
METAESTRO (F. Ovulatoria):		0,9 - 3,2 ng/ml	
DIESTRO (F. Luteínica):		3,8 - 16,5 ng/ml	
PROESTRO:		1,4 - 2,8 ng/ml	
<input checked="" type="checkbox"/> El cliente manifiesta que las muestras se mantuvieron en refrigeración			
NOTA: Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.			
 <i>Mcrb. María José Sánchez Ayala</i> Jefe de Laboratorio			
<small>* Prohibida la reproducción total o parcial del presente reporte sin la autorización escrita de Vetelab Cía. Ltda.</small>			
<small>D: Sucre N-47 y José Mejía (Machachi - Ecuador) T: (02) 2316722 C: 099 879 3956 (movil) 098 360 6731 (claro) E: info@vetelab.net • laboratorio@vetelab.net W: www.vetelab.net</small>		<small>Pág 1 de 1</small>	



ANEXO 36. Resultados de Exámenes de sangre Cantón Palora (Km 8 vía a Sangay)

		 Acreditación N° OAE LE C 14-006 LABORATORIO DE ENSAYO																						
REPORTE DE RESULTADOS																								
Caso: 15-2938																								
Fecha de recepción: 2015-11-16		Temp. De las muestras: 2°C																						
Fecha de reporte: 2015-11-20																								
Hora de recolección: 07:00 (2015-11-14)																								
Hora de recepción: 13:30																								
Propietario: Ing. Mauricio Cisneros		Teléfono: 0991199209																						
Hacienda: -----																								
Dirección: Palora - Km 8 vía a Sangay		drjhonm74@yahoo.com																						
Provincia: Morona Santiago		Canton: Palora																						
Parroquia: Palora																								
Remitente: Dr. Jhon Montenegro																								
Muestras tomadas por: Dr. Jhon Montenegro																								
Número de muestras: 6 sueros		Especie: Bovina																						
		Raza: Mestiza																						
		Sexo: Hembra																						
		Edad: Varias																						
RESULTADOS																								
Examen Solicitado: Progesterona																								
Técnica: Elisa																								
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Código</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Identificación</th> <th style="text-align: center; padding: 2px;">Resultado (ng/ml)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td style="text-align: left; padding: 2px;">1</td><td style="text-align: left; padding: 2px;">V-8HI-Pinta</td><td style="text-align: center; padding: 2px;">8,70</td></tr> <tr><td style="text-align: left; padding: 2px;">2</td><td style="text-align: left; padding: 2px;">Ch - 01</td><td style="text-align: center; padding: 2px;">8,40</td></tr> <tr><td style="text-align: left; padding: 2px;">3</td><td style="text-align: left; padding: 2px;">Ch - 99</td><td style="text-align: center; padding: 2px;">10,12</td></tr> <tr><td style="text-align: left; padding: 2px;">4</td><td style="text-align: left; padding: 2px;">Ch - 46</td><td style="text-align: center; padding: 2px;">12,21</td></tr> <tr><td style="text-align: left; padding: 2px;">5</td><td style="text-align: left; padding: 2px;">Ch - 33</td><td style="text-align: center; padding: 2px;">9,78</td></tr> <tr><td style="text-align: left; padding: 2px;">6</td><td style="text-align: left; padding: 2px;">Ch - 6</td><td style="text-align: center; padding: 2px;">8,22</td></tr> </tbody> </table>				Código	Identificación	Resultado (ng/ml)	1	V-8HI-Pinta	8,70	2	Ch - 01	8,40	3	Ch - 99	10,12	4	Ch - 46	12,21	5	Ch - 33	9,78	6	Ch - 6	8,22
Código	Identificación	Resultado (ng/ml)																						
1	V-8HI-Pinta	8,70																						
2	Ch - 01	8,40																						
3	Ch - 99	10,12																						
4	Ch - 46	12,21																						
5	Ch - 33	9,78																						
6	Ch - 6	8,22																						
<input checked="" type="checkbox"/> El cliente manifiesta que las muestras se mantuvieron en refrigeración y se transportó en cadena de frío.																								
Valores de Referencia para Progesterona																								
ESTRO (F. Folicular):		0,2 - 1,5 ng/ml																						
METAESTRO (F. Ovulatoria):		0,9 - 3,2 ng/ml																						
DIESTRO (F. Luteínica):		3,8 - 16,5 ng/ml																						
PROESTRO:		1,4 - 2,8 ng/ml																						
<input checked="" type="checkbox"/> El cliente manifiesta que las muestras se mantuvieron en refrigeración																								
NOTA: Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.																								
 <i>Mrcb. María José Sánchez Ayala</i> Jefe de Laboratorio																								
* Prohibida la reproducción total o parcial del presente reporte sin la autorización escrita de																								
Vetelab Cía. Ltda.																								
D: Sucre N-47 y José Mejía (Machachi - Ecuador)		Pág 1 de 1																						
T: (02) 2316722 C: 099 879 3956 (mov) 098 360 6731 (claro)																								
E: info@vetelab.net • laboratorio@vetelab.net W: www.vetelab.net																								

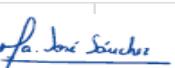


ANEXO 37. Resultados de Exámenes de sangre Cantón Morona (Uyuntza).

 REPORTE DE RESULTADOS		
Caso: 16-886		
Fecha de recepción: 2016-03-21 Fecha de reporte: 2016-03-24 Fecha Inicio de Análisis: 2016-03-22		
Hora de recolección: 8:00 (2016-03-18) Hora de recepción: 13:30	Temp. De las muestras: 4°C	
Propietario: Sr. Silvio Cardenas Cardenas Hacienda: ----- Dirección: Morona Uyuntza Km 12 - Vía Macas - Puyo Provincia: Morona Santiago Canton: Morona Remitente: Dr. Jhon Montenegro Muestras tomadas por: Dr. Jhon Montenegro		
Número de muestras: 7 sueros	Especie: Bovina Raza: Mestiza Sexo: Hembra Edad: Varias	
RESULTADOS		
Examen Solicitado: Progesterona		
Técnica: Elisa		
Código	Identificación	Resultado (ng/ml)
1	HC-35 Ritmo	15,18
2	HC-43 A-N	8,90
3	HC-50	19,36
4	HC-54	20,40
5	PV-06	12,14
6	HC-05 Resort	7,60
7	HC-33 Rethel	6,37
<small>D: Sucre N-47 y José Mejía (Machachi - Ecuador) T: (02) 2316722 C: 099 879 3956 (movil) 098 360 6731 (claro) E: info@vetelab.net • laboratorio@vetelab.net W: www.vetelab.net</small>		
Pág 1 de 2		
		
Valores de Referencia para Progesterona		
ESTRO (F. Folicular): 0,2 - 1,5 ng/ml METAESTRO (F. Ovulatoria): 0,9 - 3,2 ng/ml DIESTRO (F. Luteínica): 3,8 - 16,5 ng/ml PROESTRO: 1,4 - 2,8 ng/ml		
<input checked="" type="checkbox"/> El cliente manifiesta que las muestras se mantuvieron en refrigeración		
NOTA: Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.		
 Mcrb. María José Sánchez Ayala Jefe de Laboratorio		
<small>* Prohibida la reproducción total o parcial del presente reporte sin la autorización escrita de Vetelab Cia. Ltda.</small>		



ANEXO 38. Resultados de Exámenes de sangre Cantón Pablo Sexto (Vía Palora)

 REPORTE DE RESULTADOS																																		
Caso: 16-891																																		
Fecha de recepción: 2016-03-21																																		
Fecha de reporte: 2016-03-24																																		
Fecha Inicio de Análisis: 2016-03-23																																		
Hora de recolección: 2:00 (2016-03-18)	Temp. De las muestras: 4°C																																	
Hora de recepción: 13:40																																		
Propietario: Sr. Claudio Ruperto Guaman Guallpa Hacienda: ----- Dirección: Pablo Sexto Km 6 Vía Palora Provincia: Morona Santiago Canton: Pablo Sexto Parroquia: Pablo Sexto Remitente: Dr. Jhon Montenegro Muestras tomadas por: Dr. Jhon Montenegro																																		
Teléfono: 0991199209 drihonm74@yahoo.com																																		
Número de muestras: 10 sueros	Especie: Bovina Raza: Mestiza Sexo: Hembra Edad: Varias																																	
RESULTADOS Examen Solicitado: Progesterona Técnica: Elisa																																		
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Código</th> <th>Identificación</th> <th>Resultado (ng/ml)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1</td><td>700-RG</td><td>9,45</td></tr> <tr><td>2</td><td>705-RG</td><td>8,73</td></tr> <tr><td>3</td><td>704-RG</td><td>6,91</td></tr> <tr><td>4</td><td>703-RG</td><td>7,38</td></tr> <tr><td>5</td><td>708-RG</td><td>9,56</td></tr> <tr><td>6</td><td>707-RG</td><td>10,25</td></tr> <tr><td>7</td><td>709-RG</td><td>6,09</td></tr> <tr><td>8</td><td>710-RG</td><td>12,68</td></tr> <tr><td>9</td><td>750-RG</td><td>9,72</td></tr> <tr><td>10</td><td>752-RG</td><td>11,29</td></tr> </tbody> </table>		Código	Identificación	Resultado (ng/ml)	1	700-RG	9,45	2	705-RG	8,73	3	704-RG	6,91	4	703-RG	7,38	5	708-RG	9,56	6	707-RG	10,25	7	709-RG	6,09	8	710-RG	12,68	9	750-RG	9,72	10	752-RG	11,29
Código	Identificación	Resultado (ng/ml)																																
1	700-RG	9,45																																
2	705-RG	8,73																																
3	704-RG	6,91																																
4	703-RG	7,38																																
5	708-RG	9,56																																
6	707-RG	10,25																																
7	709-RG	6,09																																
8	710-RG	12,68																																
9	750-RG	9,72																																
10	752-RG	11,29																																
<small>D: Sucre N-47 y José Mejía (Machachi - Ecuador) T: (02) 2316722 C: 099 879 3956 (movil) 098 360 6731 (claro) E: info@vetelab.net • laboratorio@vetelab.net W: www.vetelab.net</small>																																		
Pág 1 de 2																																		
																																		
Valores de Referencia para Progesterona																																		
ESTRO (F. Folicular): 0,2 - 1,5 ng/ml METAESTRO (F. Ovulatoria): 0,9 - 3,2 ng/ml DIESTRO (F. Luteínica): 3,8 - 16,5 ng/ml PROESTRO: 1,4 - 2,8 ng/ml																																		
✓ El cliente manifiesta que las muestras se mantuvieron en refrigeración																																		
NOTA: Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.																																		
																																		
Mrcb. María José Sánchez Ayala Jefe de Laboratorio																																		
<small>* Prohibida la reproducción total o parcial del presente reporte sin la autorización escrita de Vetelab Cía. Ltda.</small>																																		