

RESUMEN

TITULO: “EVALUACION DE LA SUPEROVULACIÓN EN VACAS DONANTES CON INDUCCIÓN DE LA ONDA FOLICULAR O CON CUERPO LÚTEO NATURAL PARA PROGRAMAS DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES”

La presente investigación se realizó en la provincia del Azuay, cantón Cuenca en las parroquias de: Tarqui, Cumbe y Victoria del Portete; el objetivo planteado fu contribuir al desarrollo de biotecnología de la reproducción asistida en nuestro medio, específicamente el uso de la transferencia de embriones en bovinos de una manera eficiente, se buscó evaluar la respuesta super-ovulatoria de las vacas que se aplicaron dos tratamientos con cuerpo lúteo natural (CLN) y sincronización de la onda folicular (SOF) en las que evaluamos la calidad y la cantidad de embriones transferibles con cada tratamiento.

Para el estudio se utilizaron 20 vacas Holstein mestizas comprendidas entre tres a cinco años de edad : 9 en el sector Cumbe, 5 en Victoria del Portete y 6 en Tarqui . Con los datos obtenidos en el campo se creó una base de datos para aplicar el diseño estadístico propuesto mediante el sistema informático SPSS. El resultado en cuanto al número de embriones hubo 12 embriones con SOF y 8 embriones resultando 3.6 embriones entre las medias de los tratamientos; en cuanto a la calidad excelente de embriones con el SOF es superior a la del CLN, siendo estadísticamente significativas.

El diagnóstico ultrasonográfico permite la valoración morfométrica de los folículos para la aplicación de los protocolos de superovulación.

PALABRAS CLAVE: Biotecnología, Super-ovulatoria, SPSS, Embriones, Cuerpo Lúteo Natural, Ultrasonografía, Sincronización, Onda Folicular, Morfométrica, Protocolos

AUTOR: Carlos Alonso Soria Parra.

TEMA: *“EVALUACION DE LA SUPEROVULACIÓN EN VACAS DONANTES CON INDUCCIÓN DE LA ONDA FOLICULAR O CON CUERPO LÚTEO NATURAL PARA PROGRAMAS DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES”*



ÍNDICE DE CONTENIDOS

I INTRODUCCIÓN	8
II OBJETIVOS E HIPÓTESIS	9
III MARCO TEORICO.....	10
3. FISIOLOGIA REPRODUCTIVA DE LA VACA.....	10
3.1. Control neuroendócrino del ciclo estral	10
3.2 Dinámica folicular del ciclo estral de la vaca.....	11
3.3 ESQUEMAS DE SUPEROVULACIÓN	14
3.3.1 Superovulación.	14
3.3.2 Características de la hembra donante.....	17
3.3.3 Respuesta a la superovulación y calidad de los embriones en bovinos lecheros de elevado mérito genético, Uso de diferentes protocolos.....	17
3.3.4 Evolución de los esquemas de SOV.....	19
3.3.6 Protocolos de Superovulación con FSH:LH Combinados con ECG y GnRH para suplir supuestas carencias de LH durante la maduración folicular.	21
3.4 NUEVOS TRATAMIENTOS HORMONALES PARA LA.....	22
SUPEROVULACIÓN DE DONANTES DE EMBRIONES BOVINOS.....	22
3.5 SINCRONIZACIÓN DE CELO EN DONANTES	23
3.5.1 Variabilidad de la respuesta superovulatoria	24
3.6 SUPEROVULACIÓN DE DONADORAS	25
3.6 SUPEROVULACIÓN.....	27
3.6.1 Selección de la Donantes.	27
3.6.2 Protocolos utilizados para sincronizar el desarrollo folicular.	28
3.6.3 Progestágenos	29
3.6.4 Hormona FSH-p.....	30
3.6.5 Control del desarrollo folicular.....	30
3.6.6 Recolección de embriones.	31
3.6.7 Efectos adversos de la SOV.....	32
3.7 ANÁLISIS DE COSTOS DE ESQUEMAS DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES BOVINOS UTILIZADOS EN COLOMBIA.....	32
3.8 Transferencia de embriones.....	33



IV MÉTODOS Y MATERIALES.....	36
V RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
VI CONCLUSIONES.....	69
VII RECOMENDACIONES.....	71
VIII BIBLIOGRAFÍA.....	72
IX ANEXOS.....	75

ÍNDICE DE TABLAS

Páginas

Tabla 1. Número de casos según el tratamiento aplicado	46
Tabla 2. Embriones obtenidos por tratamiento	47
Tabla 3. Prueba “t” de Student para dos poblaciones diferentes e intervalos de confianza al 95%	51
Tabla 4. Estadísticos descriptivos para el número de embriones en estado de desarrollo blastocito	52
Tabla 5. Prueba “t” de Student para dos poblaciones diferentes e intervalos de confianza al 95%	53
Tabla 6. Estadísticos descriptivos para el número de embriones en estado de desarrollo mórula	54
Tabla 7. prueba “t” de Student para dos poblaciones diferentes e intervalos de confianza al 95%	55
Tabla 8. Estadísticos descriptivos para el total de embriones con calidad excelente	57
Tabla 9. Prueba “t” de Student para dos poblaciones diferentes e intervalos de confianza al 95%	58
Tabla 10. Estadísticos descriptivos para el total de embriones con calidad regular	59
Tabla 11. Prueba “t” de Student para dos poblaciones diferentes e intervalos de confianza al 95%	60
Tabla 12. Estadísticos descriptivos para el total de embriones con calidad muerto/degenerado	61
Tabla 13. prueba “t” de Student para dos poblaciones diferentes e intervalos de confianza al 95%	62
Tabla 14. Coeficientes y estadísticos de los parámetros del modelo	63
Tabla 15. Análisis de varianza para el total de embriones con calidad excelente	64
Tabla 16. Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra	65

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Páginas
Gráfico 1. Porcentaje de producción de embriones según el tratamiento aplicado	48
Gráfico 2. Intervalos de confianza al 95% para el número de embriones por tratamiento	49
Gráfico 3. Diagramas de caja para el número de embriones según los tratamientos aplicados	50
Gráfico 4. Número de embriones producidos de acuerdo a los tratamientos aplicados	56
Gráfico 5. Verificación de la normalidad de residuos	66

ÍNDICE DE ANEXOS

	Páginas
Anexo 1. Estadísticos para la variable número de embriones	75
Anexo 2. Estadísticos para la variable calidad del embrión	77
Anexo 3. Estadísticos de la Regresión	81
Anexo 4. Hoja de Campo	82
Anexo 5. Evidencias	85



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, **Carlos Alonso Soria Parra**, 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.


Carlos Alonso Soria Parra.
1800857342

UNIVERSIDAD DE CUENCA
desde 1867

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, **Carlos Alonso Soria Parra**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.


Carlos Alonso Soria Parra.
1800857342



UNIVERSIDAD DE CUENCA
desde 1867

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CENTRO DE POSTGRADO**

MAESTRÍA EN “REPRODUCCIÓN ANIMAL”

TEMA:

“EVALUACION DE LA SUPEROVULACIÓN EN VACAS DONANTES CON INDUCCIÓN DE LA ONDA FOLICULAR O CON CUERPO LÚTEO NATURAL PARA PROGRAMAS DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES ”.

**TESIS DE GRADO, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
“MAGISTER EN REPRODUCCION ANIMAL”**

Autor:

Dr. Carlos Alonso Soria Parra.

Director:

Dr. Guillermo Serpa Garcia. Mg. Sc.

Cuenca – Ecuador



I INTRODUCCION

La transferencia de embriones (TE) es una de las biotecnologías reproductivas que se realizan en la mayoría de las ganaderías del mundo, en donde ha tenido un desarrollo vertiginoso en los últimos diez a quince años. La TE, cuyo objetivo central es el aumento de la descendencia de reproductores de alto valor genético

La transferencia de embriones (TE) tiene como objetivo incrementar la descendencia de reproductores de alto valor genético, utilizando esquemas de superovulación (SOV) en las vacas donantes de embriones y de sincronización de celo en las donantes y receptoras.

La superovulación incluye procesos endócrinos comenzando en el ciclo estral hasta la ovulación de los folículos que se han desarrollado en respuesta al tratamiento hormonal con FSH, mediante la anulación de la onda folicular y estimulando la superovulación de la segunda o tercera onda folicular, con el objeto de producir ovocitos fértiles que posteriormente luego se inseminan y son fecundados por medio de inseminaciones artificiales, días después los embriones son recuperados del útero y tras la colecta se clasifican de acuerdo a su estadio y calidad. Los embriones pueden ser transferidos a hembras receptoras o sometidas a conservación criogénica para la preservación de una manera segura.

Para esta investigación se usaron dos protocolos de superovulación en vacas Holstein de 30-60 meses en la zona de Tarqui, Cumbe y Victoria del Portete: uno con inducción de la onda folicular con implantes a base de progestágenos, estrógenos y progesterona e inseminación a celo visto y otro superovulando a partir del día 8 al 12 del ciclo estral teniendo cuidado de que no exista un folículo dominante en crecimiento, se trata de evaluar la cantidad y la calidad de los embriones transferibles y congelables de acuerdo a las normas de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (I.E.T.S).

II OBJETIVOS E HIPÓTESIS

OBJETIVO GENERAL

- Contribuir al desarrollo de la biotecnología de la reproducción asistida en nuestro medio, específicamente el uso de la transferencia de embriones en bovinos de una manera más eficiente.

OBJETIVO ESPECIFICO

- Comparar la eficacia en la producción de embriones viables y transferibles por medio de superovulación inducida con el uso de progestágenos y estrógenos a los que se añade FSH-p versus la utilización de FSH-p como inductor de superovulación en un cuerpo lúteo natural más inseminación artificial en ambos casos, en vacas Holstein mestizas de 40 a 60 meses de edad de la zona ganadera de Tarqui, Cumbe y Victoria del Portete del cantón Cuenca en la provincia del Azuay en el año 2012.

HIPÓTESIS

La superovulación de vacas Holstein de 40-60 meses de edad con FSH-p y con cuerpo lúteo natural produce una mayor cantidad de embriones viables que con la inducción de la onda folicular con progestágenos y benzoato de estradiol.



III MARCO TEORICO

3. FISIOLOGIA REPRODUCTIVA DE LA VACA

3.1. Control neuroendócrino del ciclo estral

El ciclo estral está regulado por una interacción hormonal regida por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario-útero.

El hipotálamo forma la base del cerebro, y sus neuronas producen la hormona liberadora de gonadotrofinas o GnRH. La GnRH, en la eminencia media, difunde a los capilares del sistema porta hipofisiario y de aquí a las células de la adenohipofisis en donde su función es estimular la síntesis y secreción de las hormonas hipofisiarias, FSH y LH. (Alberio, 2008)

La hipófisis está formada por una parte anterior o adenohipófisis y una posterior o neurohipófisis. La adenohipófisis produce varios tipos de hormonas, de las cuales la FSH y LH cumplen un papel relevante en el control neuroendócrino del ciclo estral. La FSH es la responsable del proceso de esteroideogénesis ovárica, crecimiento y maduración folicular, y la LH interviene en el proceso de esteroideogénesis ovárica, ovulación, formación y mantenimiento del cuerpo lúteo. Estas hormonas son secretadas a la circulación en forma de pulsos y son regulados por dos sistemas, el tónico y el cíclico. El sistema tónico produce el nivel basal circulante, siempre presente, de hormonas hipofisiarias las cuales promueven el desarrollo de los elementos germinales y endocrinos de las gónadas, el sistema cíclico opera más agudamente, siendo evidente por sólo 12 a 24 h en cada uno de los ciclos reproductivos de la hembra. El modo cíclico tiene por función primaria causar la ovulación. (Alberio, 2008)

La neurohipófisis almacena la oxitocina producida en el hipotálamo. Esta hormona tiene varias funciones como son intervenir en el mecanismo del parto, bajada de la leche, transporte espermático e intervendría en el proceso de luteólisis.



Entre las hormonas que producen los ovarios podemos citar a los estrógenos, la progesterona y la inhibina. Los estrógenos, hormonas esteroideas, son producidos por el folículo ovárico y tiene acciones sobre los distintos órganos blanco como son las trompas de Falopio, el útero, la vagina, la vulva y el sistema nervioso central, en el cuál estimulan la conducta de celo y el hipotálamo donde ejercen un "feed back" negativo sobre el centro tónico y positivo sobre el centro cíclico. (Alberio, 2008)

La progesterona, hormona esteroidea, es producida por el cuerpo luteo por acción de la LH. Los efectos de la progesterona se observan después que el tejido blanco ha estado expuesto durante cierto tiempo a la estimulación de los estrógenos. Esta preparación por los estrógenos conduce a un efecto sinérgico. La progesterona prepara el útero para el implante del embrión y para mantener la gestación. A nivel hipotalámico ejerce un efecto negativo sobre el centro tónico. La inhibina, hormona proteica, es producida por el folículo ovárico (células granulosas) e interviene en el mecanismo de regulación de la secreción de FSH. Ejerce un feed back negativo a nivel hipofisiario, produciendo una menor secreción de FSH.

El útero produce la prostaglandina F2a (PGF2a) la cuál interviene en la regulación endócrina del ciclo estral mediante su efecto luteolítico. Otras funciones de las prostaglandinas son la de intervenir en los mecanismos de ovulación y de parto. (Alberio, 2008)

3.2 Dinámica folicular del ciclo estral de la vaca

Se conoce como dinámica folicular al proceso de crecimiento y regresión de folículos antrales que conducen al desarrollo de un folículo preovulatorio. Entre 1 y 4 ondas de crecimiento y desarrollo folicular ocurren durante un ciclo estral bovino, y el folículo preovulatorio deriva de la última. (García R. , 2005)

Para describir la dinámica folicular bovina es necesario definir conceptos de reclutamiento, selección y dominancia:



Reclutamiento: es el proceso por el cual una cohorte de folículos comienza a madurar en un medio con un aporte adecuado de gonadotrofinas que le permiten avanzar hacia la ovulación.

Selección: Es el proceso por el cual un folículo es elegido y evita la atresia con la posibilidad de llegar a la ovulación.

Dominancia: Es el proceso por el cual el folículo seleccionado domina ejerciendo un efecto inhibitorio sobre el reclutamiento de una nueva cohorte de folículos. Este folículo alcanza un tamaño marcadamente superior a los demás, es responsable de la mayor secreción de estradiol y adquiere la capacidad de continuar su desarrollo en un medio hormonal adverso para el resto de los folículos. La causa por la cual existe regresión del folículo dominante de las primeras ondas (1 de 2 ondas y 2 de 3 ondas) sería la presencia de una baja frecuencia de los pulsos de LH debido a los altos niveles de progesterona, que provocarían una menor síntesis de andrógenos y en consecuencia una menor síntesis de estradiol que iniciarían la atresia folicular. En la siguiente figura se puede observar un esquema de la dinámica folicular durante un ciclo estral bovino, surgido de estudios realizados por medio de ultrasonografía. (García R. , 2005)

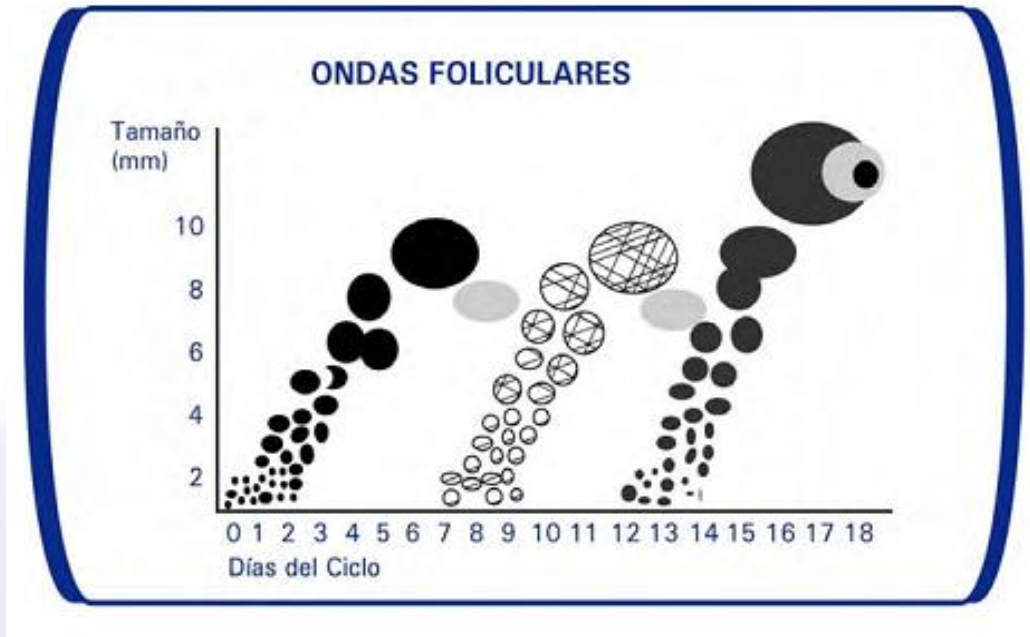


FIGURA 1: Ondas Foliculares
FUENTE: GARCÍA, 2005

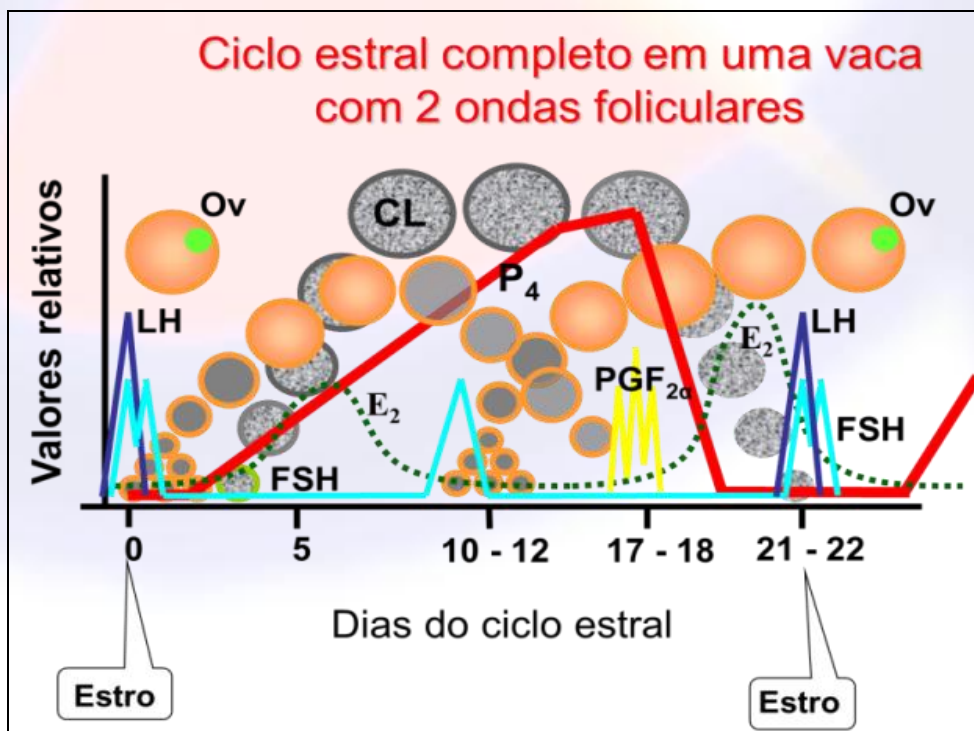


FIGURA 2: Ciclo estral de la vaca
FUENTE: (SARTORI, 2011)

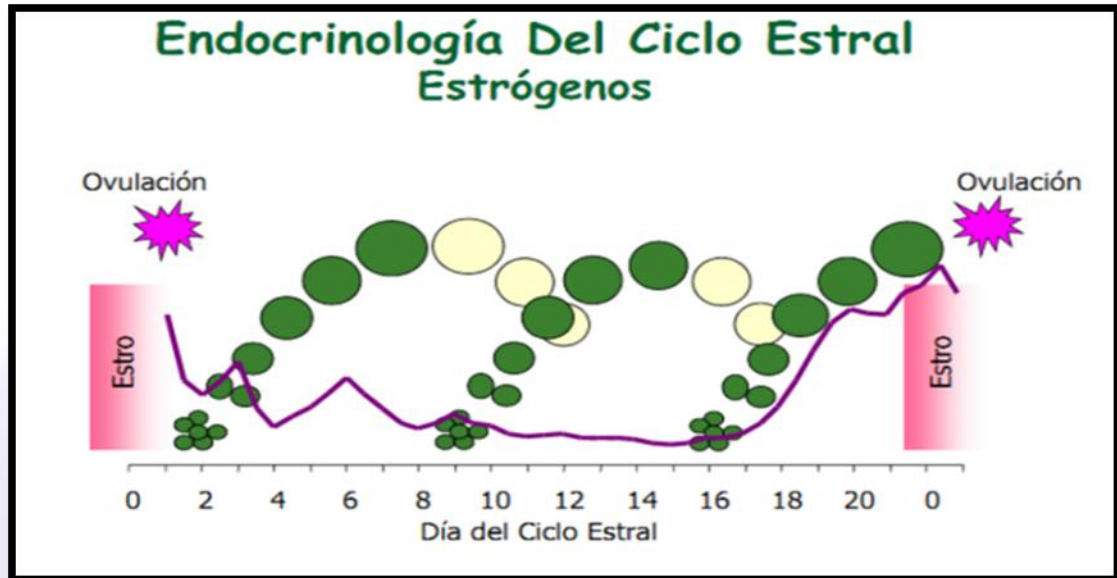


FIGURA 3: Endocrinología del Ciclo Estral
FUENTE: HINCAPIE, 2005

3.3 ESQUEMAS DE SUPEROVULACIÓN

3.3.1 Superovulación.

La superovulación es la inducción de ovulaciones múltiples mediante la disminución de la atresia folicular con el uso de hormonas. Abarca procesos endócrinos comenzando en el ciclo estral hasta la ovulación de los folículos que se han desarrollado en respuesta al tratamiento hormonal suministrado, responsables en gran medida de que los embriones recuperados sean de alta calidad. (P & JG, 2010) (Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Estado de Chiapas., 2006)

La superovulación exitosa se produce cuando se presentan más de dos ovulaciones efectivas, cuyos oocitos son fecundados por medio de dos o tres inseminaciones artificiales (IA); siete días después los embriones son recuperados del útero cuando aún no se han adosado a la superficie uterina, tras la colecta se clasifican de acuerdo a su estadio y calidad. Los embriones pueden ser



transferidos a hembras receptoras o sometidas a conservación criogénica para la preservación de una manera segura. (Garzón, Urrego, & Giraldo, 2007)

Si bien los tratamientos para la superovulación en mayor o menor grado son efectivos se debe tener en cuenta factores como el ambiente; la alimentación; la raza; la edad entre otros, que afectan la respuesta al tratamiento. (Becaluba, 2007)

Las diferencias fisiológicas y reproductivas modifican los resultados de los protocolos de superovulación, algunas de las limitaciones son la necesidad de detectar un calor para establecer un “estro base” para el desarrollo del protocolo; la incapacidad para comenzar el tratamiento superovulatorio en el tiempo óptimo del desarrollo de la onda folicular; la necesidad de detectar el estro para determinar el tiempo para la inseminación artificial; entre el 20-30% de las donadoras no responden al tratamiento superovulatorio y por ende, no hay producción de embriones.” (Becaluba, 2007)

Los esquemas de SOV procuran mejorar las tasas de producción de embriones de calidad I y II (transferibles o congelables), así como el aumentar las tasas de gestación de los mismos. (P & JG, 2010)

El tratamiento superovulatorio puede iniciarse en cualquier momento; sin embargo, el mejor para el ganado bovino es entre los días 8 y 12 del ciclo estral. (Secretaria de Agricultura, Ganaderia, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Estado de Chiapas., 2006)

Los experimentos iniciales (1980) concluyeron que la superovulación conseguida 9 ó 10 días después de la detección del celo responden mejor que los que se inician antes (2-6) o después (12 o 13), porque la segunda onda folicular comienza entre los días 9 y 10. (Becaluba, 2007)

La superovulación en vacas y novillas pueden desencadenar una liberación de 10 o más óvulos viables durante el ciclo estral; cerca del 85% de las vacas tratadas podrían proveer un promedio de 5 embriones transferibles. (Becaluba, 2007)



El objetivo principal de los tratamientos de superovulación en el ganado bovino es producir un gran número de ovulaciones y obtener el máximo número de embriones transferibles que resulten en una alta probabilidad de preñez. Sin embargo, la respuesta a estos tratamientos es muy variable y difícil de predecir. En un trabajo que incluyó 2048 recolecciones de embriones en donantes bovinas, se obtuvo un promedio de 11,5 ovocitos/embriones y de 6,2 embriones transferibles por vaca (1). Pero lo más importante que se destacó en este trabajo fue la gran variabilidad en la respuesta a la superovulación y en la producción de embriones. El 24% de las recolecciones no produjeron embriones viables, 64% de las donantes produjeron menos embriones transferibles que el número promedio y 30% de las recolecciones produjeron el 70% de los embriones. En otro estudio que incluyó 987 vacas lecheras, se obtuvo un promedio ligeramente menor de ovocitos/embriones pero la variación entre las respuestas de los distintos animales fue similar. (García, Villareal, Albrecht, & Brogliatti, 2007)

En un estudio retrospectivo que incluyó 1263 donantes, el autor encontró que solamente el 68% de las hembras inducidas a superovular produjeron embriones transferibles. El 32% restante lo integraron: 7% sin estimulación ovárica, 7% sin recolección de ovocitos ni embriones, 17% sin embriones transferibles, 1% donde no se efectuó el lavaje porque presentaron celo antes de administrársele la prostaglandina F₂ durante el tratamiento hormonal. (Garzón, Urrego, & Giraldo, 2007)

Estos trabajos muestran la alta variabilidad en la respuesta superovulatoria que crea muchos problemas que afectan tanto la eficiencia como la rentabilidad de los programas de transferencias de embriones. El objetivo de este trabajo es estudiar los diferentes factores que afectan la respuesta superovulatoria y presentar alternativas o tratamientos por los cuales se pueda controlar dicha variabilidad. (Becaluba, 2007)



3.3.2 Características de la hembra donante.

Los autores citados al final manifiestan que la superioridad genética se deben tener en cuenta factores como ciclos estrales regulares; precocidad reproductiva; uno o dos servicios por concepción en gestaciones anteriores; comportamiento individual superior a la media del grupo en características de importancia productiva (peso al destete, al año y a los dieciocho meses); producción de crías superior a la media del hato, especialmente comparado con las hermanas de la hembra (descendientes del mismo toro); ningún problema al parto; ninguna irregularidad reproductiva y con un periodo de descanso post-parto mínimo de 60 días (Garzón, Urrego, & Giraldo, 2007)

3.3.3 Respuesta a la superovulación y calidad de los embriones en bovinos lecheros de elevado mérito genético, Uso de diferentes protocolos.

Desde los primeros trabajos de transferencia embrionaria realizados por Rowson y Col en 1976 (3), la estimulación ovárica o superovulación sigue siendo un tema de real preocupación ya que los resultados no siempre son favorables, y a veces son negativos. En la industria de la transferencia embrionaria, a pesar de los progresos en cada paso de la metodología en la producción de embriones y en su transferencia, la principal desventaja es la imposibilidad de asegurar que una donante potencial pueda proveer un apropiado número de embriones de calidad en un tiempo establecido. El componente más importante en este problema es la gran variabilidad entre individuos en su respuesta ovulatoria a los tratamientos. Las variaciones individuales pueden ser atribuidas fundamentalmente a la elección de los tratamientos superovulatorios aplicados a los animales, y en las diferentes respuestas de los mismos a un tratamiento dado. (1, 2, 3, 4, 5, 7). Una alta cantidad y calidad de embriones en un régimen de superovulación podrían ser obtenidas por dos métodos. (De Luca, S, & Castrillón , 2011)

1. Producir más ovulaciones sin reducir el rango normal de fertilización, y el progreso del desarrollo temprano de los óvulos fecundados.



2. Incrementar el rango de desarrollo de los embriones viables relacionados al mismo número de ovulaciones. La primera condición se obtiene reclutando más complejos *folículos-oocitos* de alta competencia y que ellos ovulen sincrónicamente, y la segunda sería la de proveer un medio ambiente óptimo para una normal fertilización y desarrollo embrionario. Para que estas condiciones se den en el transcurso de la superestimulación debemos tener en cuenta una cantidad de factores ya sean intrínsecos o extrínsecos que pasaremos a detallar como causas básicas que afectan la superovulación:

a) Endógenas: edad, raza, intervalo parto-inicio del tratamiento, estado endócrino de la donante al inicio del tratamiento, capacidad ovogénica (capacidad altamente heredable), estado del ciclo sexual al inicio del tratamiento, concentración progesterónica al inicio del tratamiento, receptividad del cuerpo lúteo a la acción luteolítica de las prostaglandinas, lactancia, paridad, estado metabólico;

b) Exógenas: época del año, drogas usadas = FSH (relación FSH/LH), PMSG (relación FSH/LH-concentración de ácido siálico molecular) (7) (9) (11), uso de anti-PMSG Policlonal o Monoclonal (6), horario de aplicación de las drogas, calidad del producto y dosis de PGF 2 alfa. (De Luca, S, & Castrillón, 2011)

Es muy importante tener en cuenta que muchas veces no podemos separar las causas, las cuales algunas de ellas van encadenadas; están tan relacionadas unas a otras que las tendremos que integrar en el mismo grupo, por ejemplo, sincronización foliculogénesis-ovogénesis-concentración progesterónica al inicio del tratamiento, exposición de los folículos a la LH subsiguiente a la superestimulación, y receptividad del cuerpo lúteo a las prostaglandinas.

Un destacado aspecto de los tratamientos de superestimulación folicular que necesitamos comprender es la variabilidad entre los animales tratados en cuanto al número de folículos que son estimulados para desarrollar y la cantidad de ellos que ovulan. Un factor que contribuye a la variabilidad en la respuesta folicular a la superovulación que debe ser tomado en cuenta es el estado de la onda folicular ovárica en el momento del inicio del tratamiento gonadotrófico. Específicamente,



la presencia de un folículo dominante al inicio del tratamiento aparentemente suprimiría la respuesta folicular a la superestimulación. (De Luca, S, & Castrillón , 2011)

Otra característica en los protocolos convencionales de superestimulación es que solo una proporción de folículos estimulados a crecer progresan a la ovulación. Esto se debe a que en el momento del pico preovulatorio de LH algunos folículos que son estimulados para crecer no han llegado al estado de desarrollo total para responder a la LH y experimentar ovulación. Esto es probable que se exacerbe por una relativa ocurrencia temprana del pico u oleada de LH en las vacas o vaquillonas sometidas a los protocolos normales de Superestimulación del desarrollo folicular ovárico. El objetivo del presente trabajo fue evaluar si existen diferencias en la cantidad y calidad de embriones implantables cuando además de eliminar la presencia del folículo dominante retrasamos el pico preovulatorio de LH. (De Luca, S, & Castrillón , 2011)

3.3.4 Evolución de los esquemas de SOV

Para la SOV de las donadoras se utilizaba en la década de los años 90 un protocolo sencillo, que consistía en: la detección del celo de referencia para la SOV, la administración de FSH, pura o como PMSG, desde el día 9 hasta el día 12 del ciclo de referencia para la SOV (29, 50), acompañado de la administración de prostaglandina, la inseminación al celo observado junto con la aplicación de una fuente de hormona luteinizante para lograr la ovulación -y de anti-PMSG, cuando se utilizaba esta hormona como fuente de FSH para inducir la superovulación (50, 51). . El protocolo para la sincronización de las receptoras era sencillo si se compara con los complejos esquemas disponibles en la actualidad.



Desde la del año 2000 se dispone de toda una gama de esquemas de SOV de las donadoras y de sincronización del estro en las receptoras, que han hecho mucho más complejo el tratamiento hormonal de las novillas y de las vacas, han aumentado considerablemente los costos del proceso, representados en la mano de obra, el descarte de cerca de la mitad de las hembras destinadas como receptoras por tener "cuerpo lúteo inapropiado". Todo lo anterior además, de reducir la rentabilidad global del proceso, debido al número elevado de hembras receptoras descartadas en cada ciclo de transferencia, aumenta el periodo abierto de las hembras que se destinan como receptoras, algún porcentaje de las cuales son descartadas posteriormente por problemas de fertilidad, pero sin tener datos sobre la consecuencia del tratamiento hormonal. . Curiosamente, las tasas de respuesta en términos de embriones de calidad para la transferencia en fresco o la congelación, el porcentaje de gestaciones obtenidas con embriones transferidos en fresco o descongelados, y el porcentaje de terneros nacidos, siguen oscilando alrededor de los promedios obtenidos hace más de diez años. (P & JG, 2010)

3.3.5 Resultados de los esquemas de SOV y recuperación de embriones

En Europa se ha informado importantes variaciones en la tasa de embriones transferibles/año durante los últimos nueve años, en donde se observa que no se ha logrado ningún progreso en cuanto al porcentaje de embriones transferidos. En América del norte se informó una producción promedio de 4.7 embriones para 1980-1981, valor similar al promedio de 5.1 embriones informado para el período 1978-1982. Además, los investigadores han enfocado sus esfuerzos en métodos que incrementen el número de ovulaciones y de oocitos fertilizados (33, 50), pero el número de embriones transferibles no ha incrementado en los últimos 20 años. Esta situación permite plantear una serie de cuestionamientos sobre la racionalidad terapéutica y económica de los esquemas de SOV para TE y las posibles causas de las tasas de respuesta en la producción de embriones. (P & JG, 2010)



3.3.6 Protocolos de Superovulación con FSH:LH Combinados con ECG y GnRH para suplir supuestas carencias de LH durante la maduración folicular.

El objetivo del presente trabajo fue modificar los protocolos de superovulación actuales, cambiando la secuencia y el tipo de ondas de LH inducidas por los tratamientos, para ajustar los requerimientos de FSH y LH que acompañan la maduración folicular de un gran número de folículos dominantes, bajo la hipótesis de un posible déficit de LH pulsátil y de FSH durante los últimos días de los tratamientos superovulatorios. Por otro lado, buscar alternativas para aumentar la producción de embriones en donantes “problema” con antecedentes de baja producción y en donantes alimentadas con dietas hipercalóricas durante períodos prolongados. (Munar, Mujica, Martín, & Texeira, 2002)

Desde enero 2006 hasta mayo de 2007 se efectuaron 1312 tratamientos superovulatorios en donantes vacas y vaquillonas de diferentes razas de carne, en más de 50 establecimientos en Argentina y Uruguay. En el 2007 se utilizó el siguiente protocolo (n=294): día 0 colocación de DIV (Syntex) e inyección de 2 mg de Benzoato de estradiol (Syntex); día 4 inicio del tratamiento superovulatorio, utilizando dos productos de pFSH con alto nivel de LH (Pluset, Laboratorios Callier) y con bajo nivel de LH (Folltropin-V, Bioniche Animal Health), en 9 aplicaciones AM y PM con dosis decrecientes. Se utilizaron dos niveles de dosificación según raza, edad y antecedentes de producción (Pluset 420 y 500 IU; Folltropin-V 240 y 320 mg). Las donantes con antecedentes de baja producción de embriones (< 5 huevos totales) fueron tratadas con somatotrofina bovina recombinante (rBST, Lactotropin, Elanco) el mismo día de colocación del DIV para aumentar la cantidad de folículos antrales al comienzo de la superovulación. El día 6 se inyectaron con PG (AM Y PM); día 7 (AM) se retiraron los DIV y se inyectaron 400 IU de eCG para reforzar las ondas pulsátiles de LH durante el proestro; el día 8 (AM) se inicia el celo de donantes junto con la última aplicación de FSH; día 8 (PM) se inyectaron con GnRH para reforzar el pico endógeno de LH y al mismo tiempo se inseminaron a tiempo fijo



sin detección de celos; el día 9 (AM) finaliza con la segunda IATF. Las donantes fueron lavadas a los siete días del celo programado. (Munar, Mujica, Martín, & Texeira, 2002)

Para la estimación de los efectos se utilizó el procedimiento mixed del paquete estadístico SAS versión 9.1 (SAS Institute Inc.). Se analizan los resultados comparativos de producción de embriones entre Pluset y Folltropin (4,47 vs 5.28 E/TS) obtenidos con el presente protocolo, con los obtenidos durante el 2006 (n=1018) utilizando un protocolo similar sin eCG y sin GnRH (4,5 vs 4,49 E/TS). Se obtuvo un aumento significativo en la producción de embriones (6.1 E/TS, $P < 0.05$) con el protocolo Folltropin 320 mg con eCG (Novormon, Syntex) y GnRH (Gonasyn, Syntex). Se observó una tendencia a menor cantidad de cuerpos lúteos ováricos y colecta de huevos totales, aplicado a todas las razas y categorías analizadas. No se obtuvieron mejoras en la producción de las donantes “problema” y en donantes con exceso de gordura. Es necesario ampliar la investigación, cuantificar las concentraciones de LH, ajustar la dosis y el momento de la aplicación del eCG teniendo en cuenta su prolongada actividad biológica de 40 h, así como evaluar las estructuras ováricas con ultrasonido durante la superovulación y el día de la colecta, para determinar la utilidad de este aporte adicional de LH. (Munar, Mujica, Martín, & Texeira, 2002)

3.4 NUEVOS TRATAMIENTOS HORMONALES PARA LA SUPEROVULACIÓN DE DONANTES DE EMBRIONES BOVINOS

La variabilidad en la respuesta a los tratamientos superovulatorios y el tiempo y esfuerzo necesarios para la administración de los mismos han sido los principales factores que afectan la aplicación de la transferencia de embriones en programas de mejoramiento genético.

Si bien los avances en el conocimiento de los últimos años no han podido aumentar significativamente el número de embriones transferibles que se producen en promedio por tratamiento superovulatorio, el desarrollo de protocolos que controlan la emergencia de la onda folicular^{13, 15} y la ovulación^{4,18} han



permitido la superovulación de grupos de donantes, independientemente del momento del ciclo estral en que se encontraban y la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) de ellas, sin la necesidad de detectar celos. Estos tratamientos han tenido un impacto positivo en la aplicación comercial de programas de transferencias embrionarias, porque han facilitado la programación de los protocolos de trabajo, sin ser tan dependientes del conocimiento y la habilidad del personal en la detección de celos. Sin embargo, todavía existen problemas que se presentan y que potencialmente pueden dar lugar a errores que resulten en una disminución de la respuesta superovulatoria, o peor aún, en una ausencia total de respuesta. En ese sentido, la necesidad de aplicaciones de FSH cada 12 h es un factor de preocupación que debería ser solucionado y simplificado¹¹. Además, el método más comúnmente utilizado para la sincronización de la emergencia de la onda folicular para la superovulación consiste en la aplicación de dispositivos con progesterona y estradiol⁵³. Estos tratamientos no pueden ser usados en muchos países del mundo por preocupaciones de los efectos que pudieran producir los estrógenos en la cadena alimenticia. (Bó, Guerrero, A, & Mapletoft, 2011)

La intención de este trabajo es presentar avances realizados en el desarrollo de tratamientos alternativos que no necesitan el uso de estradiol para sincronizar el desarrollo folicular, la simplificación de los tratamientos super-estimuladores mediante la aplicación de una única dosis de FSH y por último la utilización de eCG al final del tratamiento superestimulador para tratar de aumentar la cantidad de embriones transferibles obtenidos por colecta (Bó, Guerrero, A, & Mapletoft, 2011)

3.5 SINCRONIZACIÓN DE CELO EN DONANTES

Una forma de sincronizar el celo en las donantes es mediante la administración de PGF 2 alfa o sus análogos sintéticos. Otra forma es prolongar la fase luteal de manera artificial mediante la administración de progesterona o progestágenos, esta opción es la más utilizada actualmente dado que la aplicación de estrógenos al colocar los dispositivos o implantes controla la dinámica folicular posibilitando



comenzar el tratamiento super-ovulatorio en cualquier momento del ciclo estral. (Palma, 2008)

3.5.1 Variabilidad de la respuesta superovulatoria

El análisis se efectúa según lo propuesto por Mapletoft y Murphy, quienes consideran por un lado la variabilidad de vida a los tratamientos hormonales y por otro la variabilidad inherente a las donantes y a su medio ambiente. (Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce, 2009)

Hormona	Dosis	Obtenidos	Embriones Transferibles	(%)	Referencias
FSH-p	24 mg	12 ± 11	5 ± 6	57 ± 37 ^a	Donaldson (1984b)
	28 mg	15 ± 12	6 ± 6	45 ± 35 ^a	
	38mg	11 ± 9	5 ± 6	52 ± 34 ^a	
	40mg	12 ± 11	5-6	43 ± 42 ^a	
	50-52 mg	7 ± 7	4 ± 5	47 ± 36 ^a	
	60 mg	7 ± 8	3 ± 4	40 ± 38 ^b	
FSH-p	15 mg	5 ^b	3	55	Pawlyshyn y col. (1986)
	30 mg	19 ^a	6	34	
	45 mg	25 ^a	5	20	
	60 mg	15 ^a	0,2	1	
FSH-p**	5 mg	0,8	0,3	38	Wu y col. (1988a)
	10 mg	6	3	52	
	15 mg	8	3	40	
	20 mg	8	3	41	
	25 mg	8	3	35	
	30 mg	9	3	33	
PMSG	40 mg	6	2	40	Zeitoun y col. (1988)
	1500 UI	3	NR	43	
	3000 UI	5	NR	25	
	6000 UI	3	NR	15	

NR: no registrado; *: equivale a 1050 UI de actividad de FSH como de LH. **: FSH-p con bajo contenido de LH, 20 mg = 35 mg FSH estándar NIH. Todas las FSH-p están expresadas en unidades Armour. Los valores con letras diferentes dentro de una misma columna difieren estadísticamente (p < 0,05)

FIGURA 4: Respuesta superovulatoria obtenida con distintas dosis de gonadotrofinas.

FUENTE: ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA (INTA), 2009



3.6 SUPEROVULACIÓN DE DONADORAS

Protocolo #1 Superovulación basada en no observación de fecha de celo utilizando el implante CIDR y la HLGn (o reemplazando la HLGn con Benzoato de Estradiol o Estradiol 17 beta donde se encuentre aprobado). La combinación de un implante de progesterona CIDR con una inyección de 2cc de HLGn a demostrado que influye positivamente en la superovulación de la especie bovina, resultando más embriones transferibles en promedio en comparación con el protocolo de superovulación # 2 , la sustitución de la HLGn por 2.5 mg de Benzoato de Estradiol o estradiol 17beta(donde se encuentra aprobada por ley) es una alternativa probada, equivalente a la HLGn, una donadora puede ser superovulada con este método en cualquier momento durante su ciclo, siempre y cuando los ovarios sean de tamaño normal (los CLs de la superovulación previa hayan sido lisados totalmente) y el útero sea normal (es decir sin proceso de gestación, involucionado por completo y no presentar indicaciones palpables o visibles de una infección uterina). Otra característica de este método es que se puede estimular a múltiples donadoras al mismo tiempo para la recuperación de embriones el mismo día sin tener en cuenta las fechas de celo previas a la donadora. (Curtis, 2009)

Protocolo #2 Superovulación después de un estro observado visualmente con fecha de referencia confirmada. La fecha del estro al que se hace referencia puede ser producto de un celo natural o un celo inducido por fármacos (prostaglandina o implante CIDR), sin embargo tenga en cuenta que un CIDR no es parte de la secuencia de superovulación. Este protocolo requiere que se observe a la donadora y se registre la referencia de su fecha de celo. (Curtis, 2009)

El octavo día (fecha de celo de referencia= Día 0) palpar a la donadora para confirmar la presencia de CL. Si se identifica un CL inyectar con HLGn dos días después (el décimo día) iniciar las inyecciones de HFE. Sin embargo si se halla un cuerpo lúteo no puede iniciarse la superovulación. Las cantidades de HFE sería las mismas que se describen en el protocolo # 1. (Curtis, 2009)

Autor: Carlos Alonso Soria Parra.

Tema: "EVALUACION DE LA SUPEROVULACIÓN EN VACAS DONANTES CON INDUCCIÓN DE LA ONDA FOLICULAR O CON CUERPO LÚTEO NATURAL PARA PROGRAMAS DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES"



PROCEDIMIENTO DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN BOVINOS

CUADRO 5. Secuencia de preparación de Donadoras y Receptoras

Dom	Lun	Mar	Mie	Jue	Vie	Sáb
	1	2	3	4	5 Donadora observada en celo	6
7	8	9	10 Insertar CIDR en donadora. Inyectar 2.5mg de benzoato de estradiol (o estradiol 17 beta) a donadora donde se encuentre aprobado. Insertar CIDR en receptoras Inyectar 2cc de HLGn a receptoras.	11	12	13 2cc de HLGn a Donadoras. NO aplicar HLGn si donadora ha recibido estradiol 3 días antes. Palpar a donadora. Si presenta CL, inyectar 2cc de HLGn.
14	15 HFE A.M. y P.M. HFE A.M. y P.M.	16 HFE A.M. y P.M. HFE A.M. y P.M.	17 HFE A.M. y P.M. Estrumate. 4cc P.M. Retirar CIDR P.M. HFE A.M. y P.M. Estrumate 4 cc P.M. Estrumate 2cc A.M. a receptoras y retirar CIDR A.M. a receptoras	18 HFE A.M. y P.M. HFE A.M. y P.M. Inyectar 2.5mg de benzoato de estradiol P.M. (o estradiol 17 beta) a receptoras donde esté aprobado. Verificar celo en receptoras P.M. Registrar # de etiqueta auricular, fecha y hora de día de inicio de celo.	19 Donadora en celo A.M. I.A. a donadora 12 y 24 hrs después de inicio de periodo de celo. Donadora en celo A.M. I.A. a donadora a 12 y 24 hrs después de inicio de periodo de celo. HLGn 2cc a receptoras, A.M., pero NO aplique HLGn si donadora recibió estradiol 1 día antes. Verificar celo en receptoras A.M. y P.M.	20 Verificar celo en receptoras A.M. y P.M.
21	22	23	24	25	26 Día de Lavado Día de Lavado	27
28	29	30				

- = Protocolo #1. Secuencia de donadora sin fecha de celo observada, usando un CIDR y HLGn
- = Protocolo #2. Secuencia de donadora tras una fecha confirmada de referencia de estro observado visualmente
- = Tratamiento de sincronización de receptora

FIGURA 5: Secuencia de preparación de donadoras y receptoras

FUENTE: CURTIS, 2009



3.6 SUPEROVULACIÓN

La Superovulación consiste en la estimulación hormonal de la donante para la formación y desarrollo de varios folículos y su ovulación en ambos ovarios en un momento previamente fijado. La inducción de la superovulación se sucede en el diestro entre el día 8 y 14 del ciclo mediante la inyección de hormonas gonadotropas con la FSH, PMSG/anti-PMSG o HCG. El celo superovulatorio se provoca finalmente con prostaglandina F2 alfa.

La superovulación se puede inducir mediante la aplicación de una serie continuada de dosis decrecientes o iguales de FSH. La recogida de embriones presenta un resultado algo superior en el caso de series decrecientes, pero para equipos de ET no muy experimentados la aplicación de dosis diferentes es algo más engorrosa y la probabilidad de cometer un error en la dosificación es mayor. La inyección de dosis idénticas es más fácil. Una condición esencial para tener éxito en la superovulación es aplicar las hormonas en el instante adecuado. En el momento de la inducción de la superovulación, entre el día 8 y 14 del ciclo debe poderse diagnosticar claramente por vía rectal en cuerpo lúteo. (Gorlach, 1999)

3.6.1 Selección de la Donantes.

La aptitud de un animal como donante para la transferencia de embriones se determina por su valor genético y su capacidad para lograr un alto nivel de resultados. Estos pueden ser óptimos si se puede seleccionar un animal que ya ha ofrecido buenos resultados en la transferencia. Se debe tener en cuenta que un tercio de las vacas donantes no producen embriones transferibles.

Se ha sugerido que en la selección de la donante se utilicen los siguientes criterios:

- Haber presentado ciclos regulares desde temprana edad.
- No requerir más de dos servicios por concepción



- Haber tenido tres crías dentro de dos años calendario
- No haber tenido partos distócicos ni irregularidades reproductivas
- No presentar defectos de conformación o genéticos detectables
- Tener de 3 a 10 años de edad

Factores que influyen en la superovulación son: la raza, edad, la categoría, la época, los niveles de nutrición, inmunológicos e inclusive individuales. (Hincapie & Brito, 2005)

3.6.2 Protocolos utilizados para sincronizar el desarrollo folicular.

Los dispositivos intravaginales con progesterona se utilizan para la sincronización de celos y para la inseminación artificial posterior; y como luteolíticos indirectos se utilizaban altas dosis de valerato de estradiol o benzoato de estradiol. (Espinosa, 2010)

La mezcla de estrógenos y progestágenos con el fin de controlar el desarrollo folicular se sustenta en su intenso efecto supresor sobre las gonadotropinas, la acción de la FSH se elimina y genera la atresia de todos los folículos presentes. La supresión folicular es seguida por una onda folicular dependiente de FSH. (Espinosa, 2010)

Se usa progesterona para disminuir los pulsos de hormona luteinizante (LH), lo que bloquea el crecimiento del folículo dominante, este efecto depende de la dosis; en algunas ocasiones se utiliza Prostaglandina F_{2α} para obtener la luteólisis, que a su vez depende del estado del folículo. La ovulación inducida con prostaglandinas es variable, resulta indispensable detectar el celo como punto de referencia para que se produzca la inducción y posterior inseminación. El programa Ovsynch es un punto de referencia desde el que se han desarrollado muchos otros. (Cavestany, 2010)

En los bovinos la SOV puede ser provocada por preparados de actividad gonadotrópica como la gonadotropina coriónica equina (eCG) y la hormona folículo estimulante de origen porcino (FSH-p). (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Estado de Chiapas., 2006)



La superovulación puede ser inducida por la administración hormonal, vía intramuscular o subcutánea, de gonodotropinas (eCG) o de folículo estimulante (FSH) siendo la más usada ya que los resultados obtenidos en la tasa de ovulación y la calidad de los embriones son mejores. (Becaluba, 2007)

3.6.3 Progestágenos

La aplicación de diferentes dispositivos con distintas concentraciones de progesterona se han utilizado, un ejemplo es el conocido CIDR (Controlled Internal Drug Release). La aplicación de GnRH puede dar lugar a la ovulación de folículos de más de 10 mm en etapa de crecimiento y maduración cuando se administra Prostaglandina F2 α a los 7 días de la GnRH (tiempo suficiente para que el cuerpo lúteo formado sea sensible a esta hormona). (García, Villareal, Albrecht, & Brogliatti, 2007)

El tratamiento con sales de estradiol supone la administración de Prostaglandina F2 α un día más tarde para que la ovulación provocada por la liberación de LH ocurra 24 horas más tarde. La Prostaglandina F2 α podría ser evitada si se realiza previamente una ecografía para visualizar la presencia de un cuerpo lúteo. La administración de GnRH 48 horas después de la PG sincroniza las estructuras ováricas para lograr una ovulación en un momento predecible sin manifestación de celo. La sustitución de la GnRH por una sal de estradiol, comúnmente Benzoato, 24 horas después de la PG no suprime los síntomas de celo, por lo que permite realizar la IA luego de la detección de éste. (García, Villareal, Albrecht, & Brogliatti, 2007)

La super estimulación con FSH exógena puede incrementar la respuesta ovárica si se aplica al inicio de la onda folicular. Al sincronizar la onda folicular se usa una combinación de progesterona (P4) y estradiol (EB) originando la emergencia de una nueva onda folicular 4 días después. Es importante conocer la historia reproductiva y el celo previo al inicio del tratamiento superovulatorio ya que podría mejorar la producción de embriones. (Ake, Alfaro, Aguayo, & Holy, 1998)



La FSH de fuente exógena se administra para lograr que todos los folículos que crecerán en presencia del estímulo alcancen un diámetro preovulatorio; la PGF2 α administrada al tercer día del inicio de la FSH, junto con el retiro del implante permite lisar el CL y garantizar la caída de los niveles de P4; la administración de LH el día del celo junto con la primera IA procura inducir la ovulación de todos folículos que alcanzaron el diámetro preovulatorio. (P & JG, 2010)

La FSH debe ser administrada 8 veces cada 12 horas los días 4, 5, 6 y 7 debido a su corta vida media (2 a 5 horas) después de iniciar el estro con un cuerpo lúteo (CL) funcional. (Becaluba, 2007)

3.6.4 Hormona FSH-p.

La hormona folículo estimulante de origen porcino (FSH-p) es un extracto pituitario al que se le ha extraído aproximadamente el 80% de la LH. La forma de presentación es en ampollas con 400mg de NIH-FSH-P1. (7) Se aplica de manera decreciente durante cuatro días a una dosis de 280 mg a 400 mg tomando como primer día el décimo a partir de la aparición de estro y aplicando prostaglandinas sintéticas (PGF, alfa) el tercer día de superovulación. La hormona FSH-p induce una respuesta más uniforme y preferible que la lograda con la eCG. (Secretaria de Agricultura, Ganaderia, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentacion, Estado de Chiapas., 2006)

Los ésteres de estradiol como el benzoato (EB), el valerato (EV) y el cipionato (ECP) han reportado inducción de la regresión folicular cuando son administrados en presencia de altas concentraciones de progesterona (P4) en el plasma. (Becaluba, 2007)

3.6.5 Control del desarrollo folicular.

En vacas la formación de la onda folicular incluye reclutamiento, selección, dominancia y ovulación o atresia del folículo mayor o dominante (FD). La sincronización hormonal del desarrollo folicular se puede lograr mediante la administración de una dosis de 100 μ g de GnRH para inducir la liberación de LH



y causar la ovulación o regresión del folículo dominante dependiendo del estado de crecimiento y actividad metabólica; mediante la administración de estradiol natural (17β); alguna de las sales sintéticas (benzoato, valerato o cipionato); los cuales poseen diferente vida media en la sangre (desde horas para el 17β hasta días para el cipionato), lo que debe ser tomado en cuenta al usarlos, y la precisión en el surgimiento de una nueva onda folicular que es menor que cuando se utiliza la GnRH. (9) La administración de GnRH produce resultados poco alentadores. Posterior a la SOV, los oocitos se fecundan por medio de dos o tres inseminaciones artificiales (IA); siete días después los embriones se recuperan del útero siendo entonces clasificados de acuerdo a su estadio y calidad. (Becaluba, 2007)

Al obtener los embriones provenientes de una hembra donante se espera que estos se encuentren en la fase evolutiva correspondiente a los seis días y medio o siete días de desarrollo en estadio de mórula, mórula compacta o blastocisto temprano (conservando aún su zona pelúcida intacta). (Duica Amaya, 2010)

3.6.6 Recolección de embriones.

Los métodos de recolección de embriones el transcervical es el más utilizado. (Secretaria de Agricultura, Ganaderia, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentacion, Estado de Chiapas., 2006)

Las técnicas para recolectar los embriones se basan en un lavado de los cuernos uterinos con un medio nutritivo para los embriones, ya que éstos todavía no se han adosado al endometrio, esta práctica se efectúa por vía vaginal, introduciendo un catéter mediante el que se instila un medio enriquecido que es recuperado posteriormente por sifonaje en donde se encuentran los embriones. La manipulación excesiva del útero puede producir liberación de prostaglandinas y disminuir la cantidad y calidad de los embriones. (Duica Amaya, 2010)

Se observó que las donadoras con $> 3\text{nm/ ml}$ de progesterona tienen mayor promedio en el total de óvulos y embriones (9.3 vs 4.7; $P < 0.01$) y en los embriones transferibles (6.6 vs 3.0; $P < 0.01$) que los animales con menor



concentración de progesterona $P \leq 3.0 \text{ nm/ml}$). La variabilidad o los resultados es notorio. (P & JG, 2010)

3.6.7 Efectos adversos de la SOV.

El tratamiento hormonal de SOV retrasa el subsiguiente período estral como consecuencia de las variaciones endocrinas que se producen por la estimulación forzada a la que es sometido el ovario, afectan la fertilidad y la calidad del celo. La administración de un progestágeno en un tratamiento de SOV permite aumentar el número de ovulaciones pero provoca más estros silentes, baja la tasa de fecundación y acelera el tránsito de los embriones, lo que aumenta el número de embriones con retraso en su desarrollo al realizar la colecta. El tratamiento a largo plazo con progestágenos exógenos produce un desbalance hormonal y resultados indeseables en el ciclo estral. También puede acortar la duración del estro en novillas. (P & JG, 2010)

3.7 ANÁLISIS DE COSTOS DE ESQUEMAS DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES BOVINOS UTILIZADOS EN COLOMBIA.

En el presente trabajo se presenta el análisis de los costos de tres esquemas de transferencia de embriones aplicados en Colombia, realizado con base en la cotización de los productos en las casas comerciales a precios actualizados del año 2008. Las fuentes de variación consideradas en el análisis fueron las siguientes: 1) superovulación (SOV) de donadoras, 2) sincronización de las receptoras, y 3) mano de obra. Los esquemas comparados fueron: esquema 1 (E1), sincronización con implantes de progesterona, dosis constante de FSH y sincronización de la ovulación con GnRH, seguidas de la IA; esquema 2 (E2), sincronización con prostaglandinas, dosis constante de FSH, LH e inseminación; y esquema 3 (E3), sincronización con progesterona, dosis constante de FSH, prostaglandina, GnRH (36h), LH e IA. El costo por embrión transferible producido se calculó con base en 6.3, 6.6, y 10.3 embriones transferibles/lavado, para los esquemas 1, 2, y 3, respectivamente; cuatro lavados/donadora/año, y 50 o 100% de embriones implantados, para los tres esquemas. Los costos estimados por embrión



transferible, asumiendo un 100% de tasas de gestación fueron: US 239.8 (\$ 479.585.7), US 156 (\$ 312.879.0), y US 115.1 (\$ 230.186.5), para los esquemas E1, E2 y E3, respectivamente, sin diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) en los componentes de costos entre esquemas. Los costos aumentaron a US 359.7 (\$719.378.6), US 234.7 (\$ 469.318.4), y US 172.6 (\$ 345.279.7), respectivamente, cuando se incluyeron las pérdidas por embriones transferidos no implantados (50%). En el trabajo se discuten otros costos fijos del proceso de TE que fueron invariables para los tres esquemas. Hasta donde se pudo consultar la literatura, este es el primer reporte que hace un análisis de costos de programa de TE en Colombia. Este trabajo aporta elementos del sistema de costos que se proponen para el cálculo de costos en programas de transferencia de embriones. (Paula & Estrada, 2008)

3.8 Transferencia de embriones.

Desde el inicio del uso intensivo de la transferencia de embriones (TE) en Colombia, los esquemas hormonales para la inducción de la superovulación (SOV) en las donadoras y la sincronización de las receptoras (SR), se han aplicado de conformidad con los estudios realizados en otras partes del mundo. Una gran cantidad de variaciones en los esquemas está disponible en la literatura, cuya aplicación no ha obedecido al diseño de estudios clínicos completos, sino que se basan en el principio de la utilización de productos hormonales por su presumida farmacología, sin hacer seguimiento ni de su farmacocinética ni de los potenciales efectos colaterales adversos en la fertilidad. Los esquemas utilizados podrían tener efectos colaterales asociados de manera directa o indirecta con el uso incontrolado de hormonas exógenas, o con el tiempo durante el cual las donadoras o receptoras son sometidas a los tratamientos, olvidando aspectos fundamentales de la ética en la experimentación animal. La proliferación de esquemas de SOV y de SR busca mejorar las tasas de respuesta en la producción de embriones de calidad I y II (transferibles o congelables), y aumentar las tasas de gestación de los embriones transferidos, pero los resultados no han mejorado significativamente a lo largo de los últimos 20, situación común en todos los



países del mundo. En el presente trabajo se hace una revisión sobre el uso de hormonas en los esquemas de SOV y sincronización de receptoras, con énfasis en la racionalidad del uso de las hormonas y los resultados obtenidos. Finalmente, se proponen varios elementos de juicio para plantear una discusión sobre la racionalidad y la bioética de los esquemas utilizados en la TE (P & JG, 2010)

La transferencia de embriones (TE) pretende incrementar la descendencia de reproductores de alto valor genético, especialmente el de las hembras, usando esquemas de superovulación (SOV) en las vacas donadoras de embriones y de sincronización de celo en las donadoras y las receptoras, los esquemas farmacológicos usados son muy diversos. (P & JG, 2010)

La técnica consiste en "...inducir un embrión en etapa de preimplantación en el útero de la hembra denominada receptora, la cual se encargará de gestarlo"; el embrión puede ser fresco o congelado. (Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Estado de Chiapas., 2006)

Esta técnica depende de la disponibilidad de embriones de calidad adecuada y de un medio uterino propicio. (Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Estado de Chiapas., 2006) Además la respuesta ovárica, el número de ovulaciones, fertilización y viabilidad embrionaria condicionan el éxito de la transferencia embrionaria (García, Villareal, Albrecht, & Brogliatti, Respuesta ovárica y número de embriones en donantes superestimuladas con diferente score corporal, 2007). Su aplicación se puede ver afectada por factores concernientes a la donante, embrión y receptora. Es fundamental realizar un seguimiento de la integridad del tracto reproductivo, como las estructuras ováricas presentes durante la sincronización del estro antes y después de la transferencia embrional. Un desarrollo folicular óptimo estará representado por la formación de un cuerpo lúteo generador de concentraciones de progesterona suficientes para acondicionar al útero y permitir el desarrollo adecuado del embrión. En la hembra donante se controla hormonalmente el ciclo



estral y usando gonadotropinas exógenas se induce la superovulación para lograr un mayor número de oocitos viables. (Duica Amaya, 2010)

En la TE la hembra donante debe presentar por lo menos dos ciclos normales, provenir de líneas fértiles y disponer de un aparato reproductor y ciclo estral normales; sin antecedentes de distocias y retenciones placentarias; no más de dos servicios por concepción y una edad de 3 a 10 años; libre de enfermedades que afecten la función reproductiva y sometidas a un programa de vacunación y desparasitación. Se puede inducir el ciclo en ausencia del mismo. (Secretaria de Agricultura, Ganaderia, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentacion, Estado de Chiapas., 2006)

La condición corporal es uno de los factores intrínsecos que afectan la reproducción en la hembra, donantes de alta condición corporal y sobrepeso tienden a producir menor cantidad de embriones viables por colecta. Donadoras con condición corporal de 2 y 3 presentan mejor respuesta a la superovulación, lo que demuestra lo importante de controlar el estado nutricional y el y la condición corporal. (García, Villareal, Albrecht, & Brogliatti, 2007)

Para las receptoras se exigen las mismas condiciones que para las donadoras pero pueden utilizarse animales de cualquier raza y cruce; deben ser animales jóvenes, sanos y con buen desarrollo corporal, pelvis amplia; con buen estado nutricional y una historia de partos normales; dóciles y fáciles de manejar y con una producción de leche suficiente para criar hasta el destete su becerro. Sin embargo, la TE no ha tenido una difusión acorde con su potencial beneficio por los altos costos y la gran variabilidad de la respuesta en la producción de los embriones. (Secretaria de Agricultura, Ganaderia, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentacion, Estado de Chiapas., 2006)



IV MÉTODOS Y MATERIALES

De acuerdo a la estrategia utilizada para analizar el problema, se trata de una investigación científica.

Para esta se tomaron en cuenta las siguientes variables:

-Independientes:

- Tratamientos:
 - sincronización de la onda folicular
 - cuerpo lúteo natural

-Dependientes

- celo visto
- inseminación artificial
- embriones transferibles

4.1 ÁREA DE ESTUDIO

4.1.1 Generalidades del Área

La investigación se encuentra en la jurisdicción política de la provincia del Azuay, cantón Cuenca, en las parroquias Tarqui, Cumbe y Victoria del Portete ; situadas a 20, 18 y 8 Km. de la ciudad de Cuenca respectivamente.

4.2 TÉCNICA DE CAMPO

Las labores realizadas para la presente investigación fueron:

Selección de vacas donadoras de acuerdo a los siguientes parámetros:

- Condición corporal: >2,75 hasta 3,5
- Raza: Holstein mestiza
- Edad: 40 a 60 meses
- Ciclos estrales regulares: Normales
- Post-parto de la donante: Mínimo 60 días abiertos
- Uno o dos servicios por concepción máximo en gestaciones anteriores



- Producción de crías superior a la media del hato
- Ningún problema en el parto
- Ninguna irregularidad reproductiva

Se aplicaron los siguientes protocolos de superovulación para la realización de la investigación.

Tratamiento 1

Día	Donante. Inducción de la onda folicular (A) SOF
0	Aplicación de un implante intravaginal de 1.9 g de progesterona (LR) Aplicación de 2 mg benzoato de estradiol / IM. Aplicación de 100 mg de progesterona / IM.
4	Aplicación de 40 mg de FSH-p / IM, 6 am Aplicación de 40mg de FSH-p/IM, 6 pm
5	Aplicación de 30 mg de FSH-p / IM, 6 am Aplicación de 30 mg de FSH-p/ IM, 6 pm
6	Aplicación de 20 mg de FSH-p / IM, 6 am Aplicación de 150 µg de PGF2α / IM, 6 am Aplicación de 20 mg de FSH-p/ IM, 6 pm Aplicación de 150 µg de PGF2α / IM, 6 pm Retiro de implante junto a la segunda dosis de PGF2α
7	Aplicación de 10 mg de FSH-p / IM, 6 am Aplicación de 10 mg de FSH-p / IM, 6 pm
8	Inseminación artificial con semen con 10 millones de espermatozoides viables a las 6 am más GnRH 500 mcg/ IM. Inseminación artificial a las 6 pm.
15	Colecta y evaluación de embriones

**Tratamiento 2**

Día	Donante. Cuerpo lúteo natural (B) CLN
0	Detección de celo.
10 ± 2	Visualización del CL, y ausencia de Folículo Dominante o Folículo dominante en regresión con Ecosonografía
10 ± 2	Aplicación de 40 mg de FSH-p / IM, 6 am Aplicación de 40 mg de FSH-p / IM, 6 pm
11 ± 2	Aplicación de 30 mg de FSH-p / IM, 6m Aplicación de 30 mg de FSH-p / IM, 6 pm
12 ± 2	Aplicación de 20 mg de FSH-p / IM, 6 am Aplicación de 150 µg de PGF2α / IM, 6 am Aplicación de 20 mg de FSH-p / IM, 6 pm Aplicación de 150 µg de PGF2α / IM, 6 pm
13 ± 2	Aplicación de 10 mg de FSH-p / IM, 6 am Aplicación de 10 mg de FSH-p / IM, 6 pm
14 ± 2	Celo visto más GnRH 400 mcg/ IM más IA con semen con 10 millones de espermatozoides viables a las 6 am Inseminación artificial a las 6 pm.
21 ± 2	Colecta y evaluación de embriones

Se procedió a verificar la superovulación en las vacas realizando una ecografía a cada vaca.



La recolección de embriones se realizó de acuerdo a la técnica establecida:

- Lavado de la región perineal de la vaca.
- Desinfección de la zona de anestesia.
- Anestesia epidural baja administrando 5 cc de lidocaína, esperando 10 minutos para obtener el efecto deseado.

Se procede a introducir la sonda Folley de dos vías, con la ayuda de un mandril; dirigimos la misma hacia el cuerno en donde el ovario presenta mayor número de cuerpos lúteos, ubicando la punta de la misma 5cm hacia craneal de la bifurcación de los cuernos uterinos, se infla el balón con aire de acuerdo al tamaño del cuerno uterino (8-12cc) de diámetro.

El tubo en “Y” se conecta un extremo a la solución de lavado, el otro al filtro en donde se reciben los embriones, el líquido filtrado se recibe en un recipiente graduado para medir el volumen del medio extraído para asegurar de que la cantidad que entró debe salir.

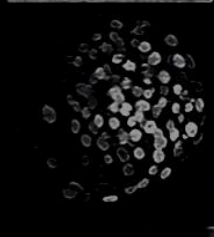
Una vez situada la sonda Folley en el lugar adecuado se retira el mandril y se conectó la misma con el extremo libre del tubo en “Y”,

Se ejecutó el lavado introduciendo 50cc por cada vez del medio de colección (PBS), el mismo que estuvo a la misma temperatura corporal igual que el útero luego se cierra el clamp de entrada, se abrió el clamp de salida hasta completar 500cc por cuerno.

Se repitió el mismo procedimiento con el otro cuerno uterino opuesto.

Terminado el proceso de lavado, el filtro que contiene el líquido de colecta con los embriones se lleva al laboratorio evitando la presencia de los rayos solares, el mismo se volcó a una caja Petri cuadrículada diseñada para la búsqueda de los embriones. Ubicados los embriones se los colocó en un medio nutritivo y se procedió a la valoración de acuerdo a los parámetros de calificación de la

“Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones” (I.E.T.S) la que se indica a continuación:



Apéndice D. Ilustraciones fotográficas de la fase de desarrollo del embrión y códigos de calidad

Joseph M Wright, Genetics Management Services, 607 Lafayette, Castroville TX 78009 USA

Los formularios recomendados por la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones para la certificación e identificación de los embriones (Capítulo 9, *Manual de la IETS, 3ª Edición*) requieren códigos numéricos para la fase de desarrollo y la calidad del embrión. Los embriones en las fotomicrografías de este apéndice se han identificado por el día de obtención y se han asignado los códigos para la fase de desarrollo y la calidad por un grupo de individuos experimentados. Los comentarios al pie se aportan para ayudar al lector a entender el proceso por el que se asignaron los códigos. Las definiciones completas de los códigos de calidad del embrión y un diagrama que ilustra todos los códigos numéricos para cada fase de desarrollo aparecen en el Capítulo 9. Las descripciones abreviadas tal y como aparecen en la parte de atrás de los formularios de la IETS, son como siguen:

ESTADO DE DESARROLLO	
Nº	Estado
1	No fecundado
2	2 a 12 células
3	Mórula temprana
4	Mórula
5	Blastocisto temprano
6	Blastocisto
7	Blastocisto expandido
8	Blastocisto eclosionado
9	Blastocisto eclosionado expandido

CALIDAD DE LOS EMBRIONES	
Código	Calidad
Código 1	Excelente o Bueno
Código 2	Regular
Código 3	Malo
Código 4	Muerto o Degenerándose

Recurrir al Capítulo 9, *Manual de la IETS, 3ª Edición*, para las descripciones completas de los códigos.

FIGURA 6: Estado de desarrollo y calidad de embriones

FUENTE: Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones, 2000

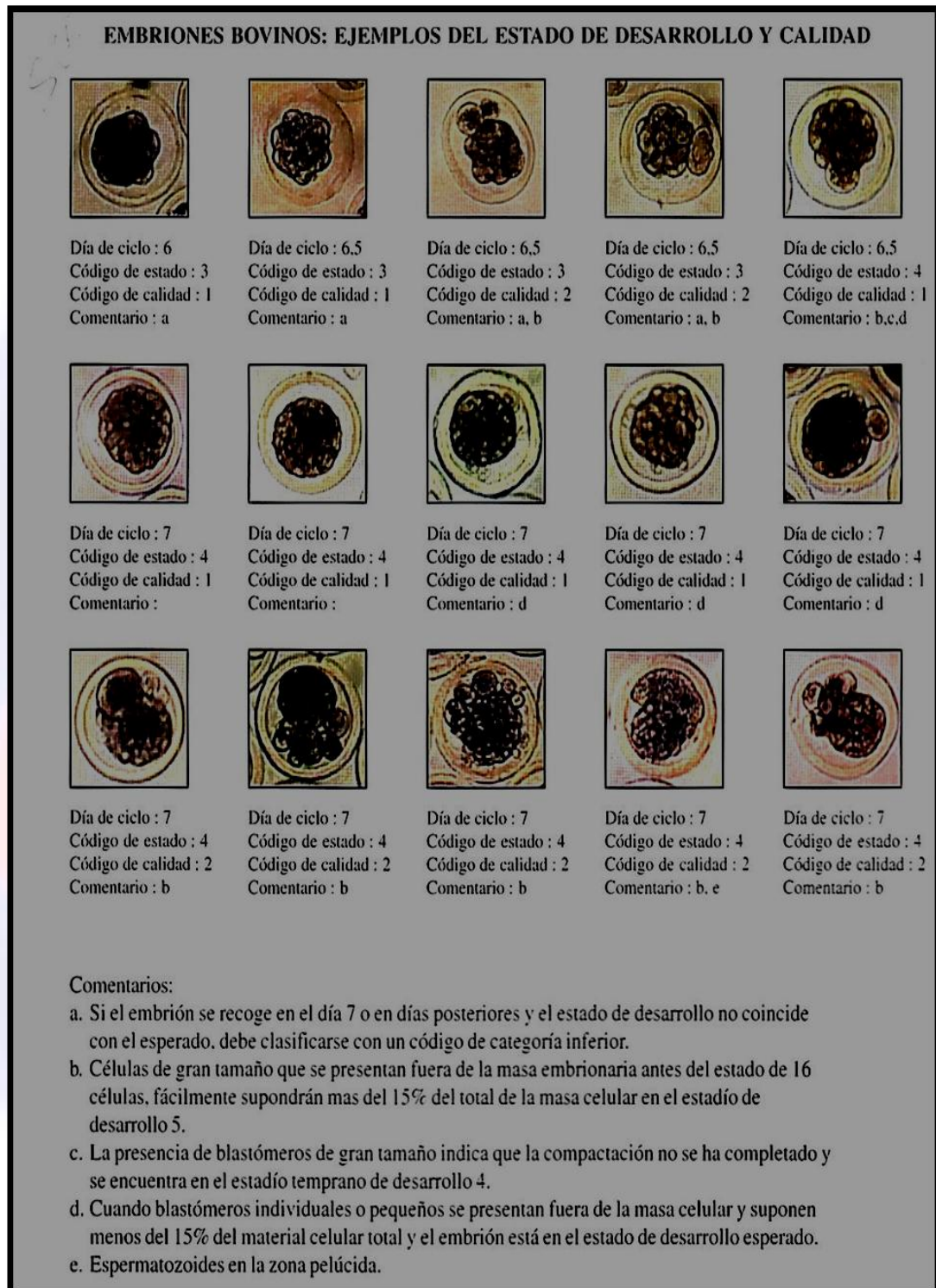


FIGURA 7: Embriones Bovinos: Ejemplos del Estado de Desarrollo y Calidad

FUENTE: Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones, 2000

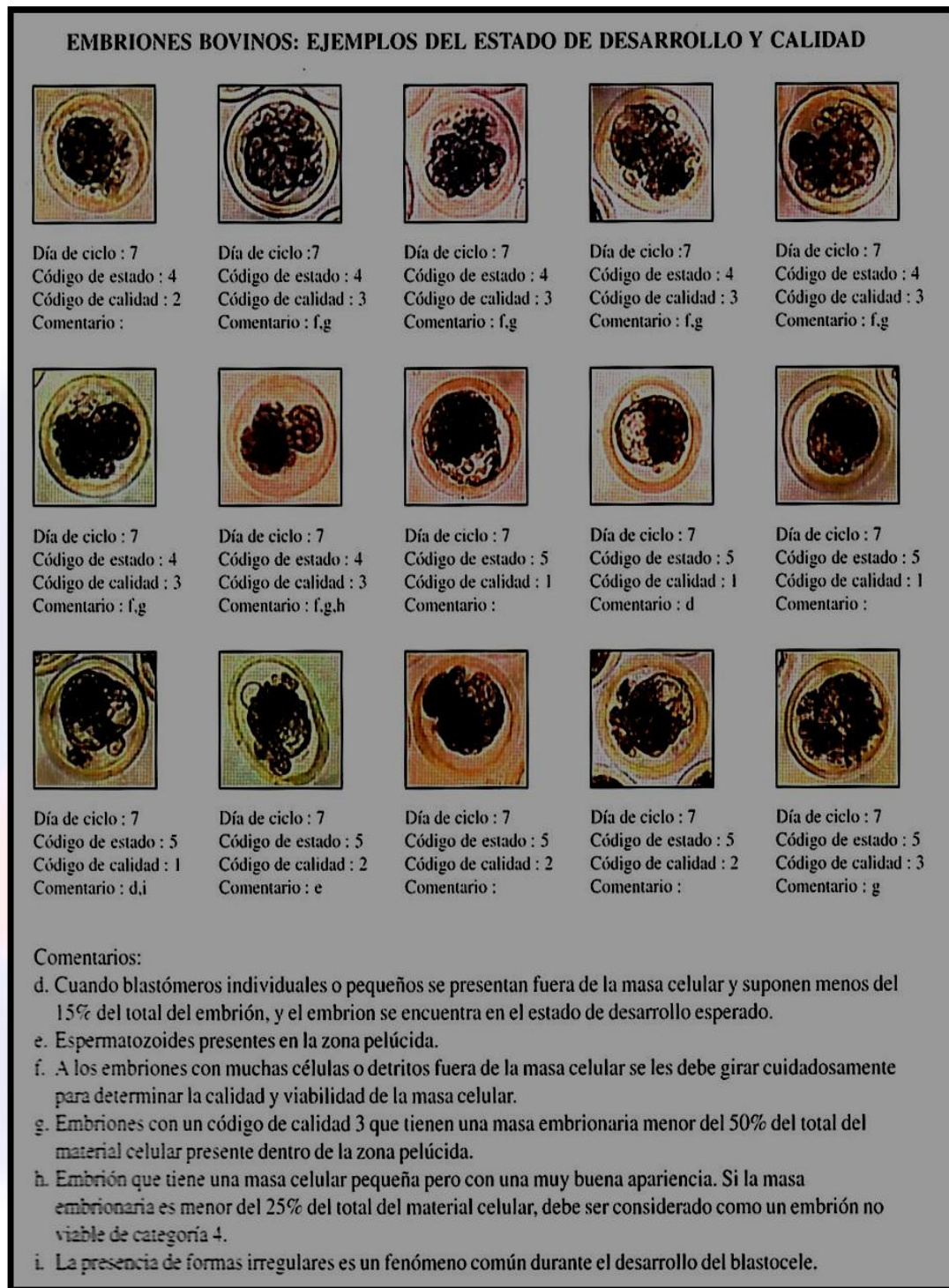


FIGURA 8: Embriones Bovinos: Ejemplos del Estado de Desarrollo y Calidad
FUENTE: Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones, 2000

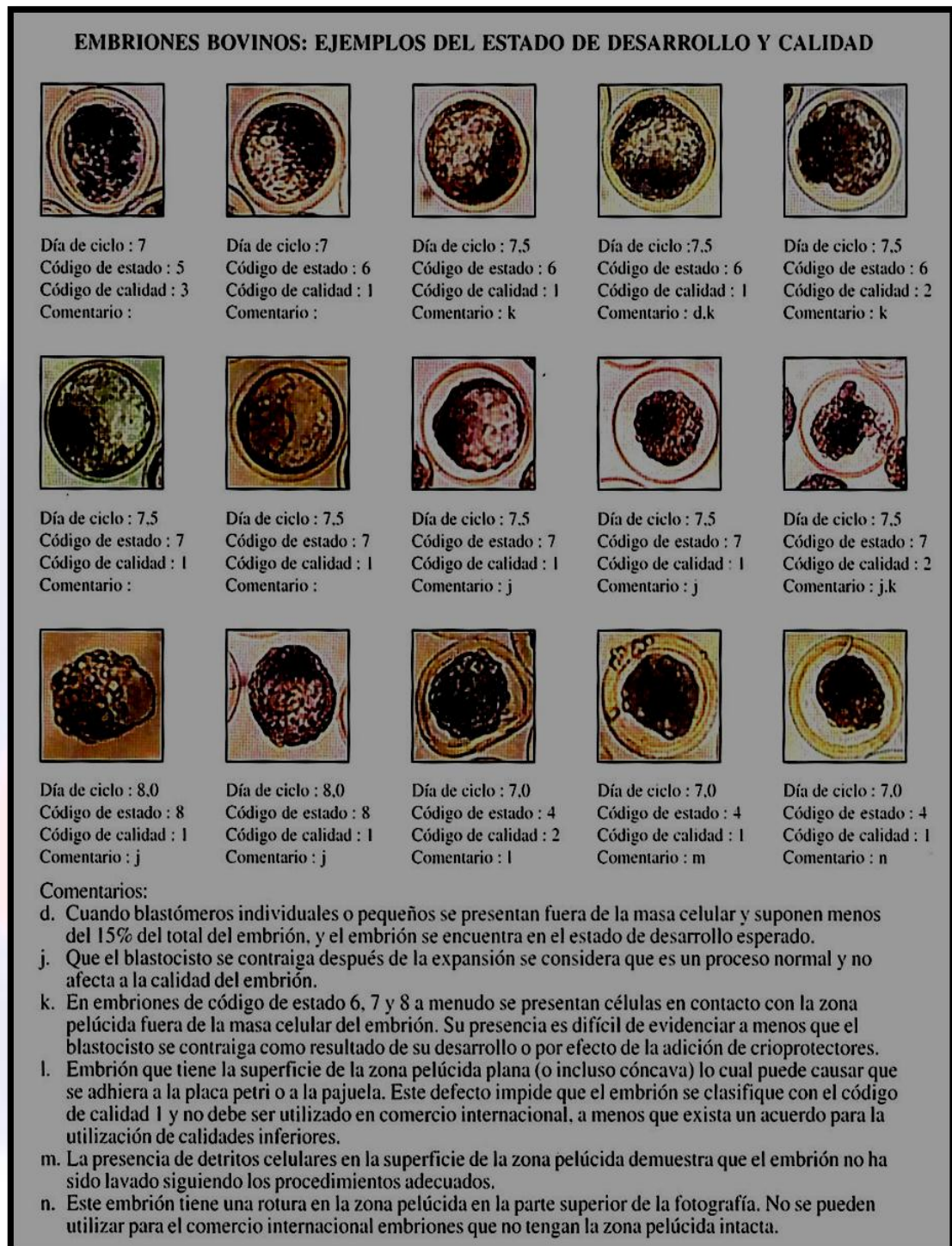


FIGURA 9: Embriones Bovinos: Ejemplos del Estado de Desarrollo y Calidad
FUENTE: Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones, 2000



4.4 MATERIALES

Para la investigación se utilizó los siguientes materiales:

M.Físicos	M.Químicos	M.Biológicos
Equipo de Ultrasonografía Aloka 505 Sonda de 5.5Mb	-Progestágeno implantes -Progestágeno inyectable 10 dosis -Benzoato de Estradiol 20 dosis -Prostaglandina 20 dosis Fármacos -GNRH 20 dosis -FSHp 20 dosis -Medio de Lavado (PBS) 20 dosis Hollding 20 dosis Eilenglicol 20 dosis Xilocaina 20 dosis Xilacina 20 dosis	10 Vacas Holstein
Registros de Control		
Materiales de Oficina		
Lapto		
Impresora		



4.5. DISEÑO ESTADÍSTICO

4.5.1 Población o universo.

El presente trabajo se realizó con un universo de 20 vacas, repartidos en 9 vacas en la Parroquia Cumbe, 6 en la Parroquia Tarqui y 5 vacas en la Parroquia Victoria del Portete del cantón Cuenca, provincia del Azuay.

4.5.2 Muestra.

Los datos requeridos para realizar esta investigación se tomaron de la siguiente manera:

- 9 vacas de la Parroquia Cumbe
- 6 vacas de la Parroquia Tarqui
- 5 vacas de la Parroquia Victoria del Portete

4.5.3 Tipo de muestreo.

Fue dirigido y estratificado en función de la Condición Corporal 2.75 a 3.50 y la vida reproductiva de vacas

4.5.4 Pruebas estadísticas

Se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas

- Prueba del Levene (para homogeneidad de varianzas)
- Prueba de Normalidad Kolmogov-Smirnof (para determinar la normalidad de los residuos)
- Pruebas “t” de Student para muestras independientes.
- Análisis de varianza para un factor.
- Intervalos de confianza al 95% para las medias de los tratamientos.
- Gráficos de normalidad.

V RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los casos de estudio analizados según los tratamientos aplicados fueron:

Tabla 1. Número de casos según el tratamiento aplicado

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
CASOS CON SINCRONIZACION DE LA ONDA FOLICULAR	10	50%	50%
CASOS CON CUERPO LÚTEO NATURAL	10	50%	100%
Total	20	100%	

Elaboración: Soria C.

Los casos a los que se aplicó el tratamiento con Sincronización de la Onda Folicular, fueron en similar número de los que estuvieron bajo el tratamiento con Cuerpo Lúteo Natural.

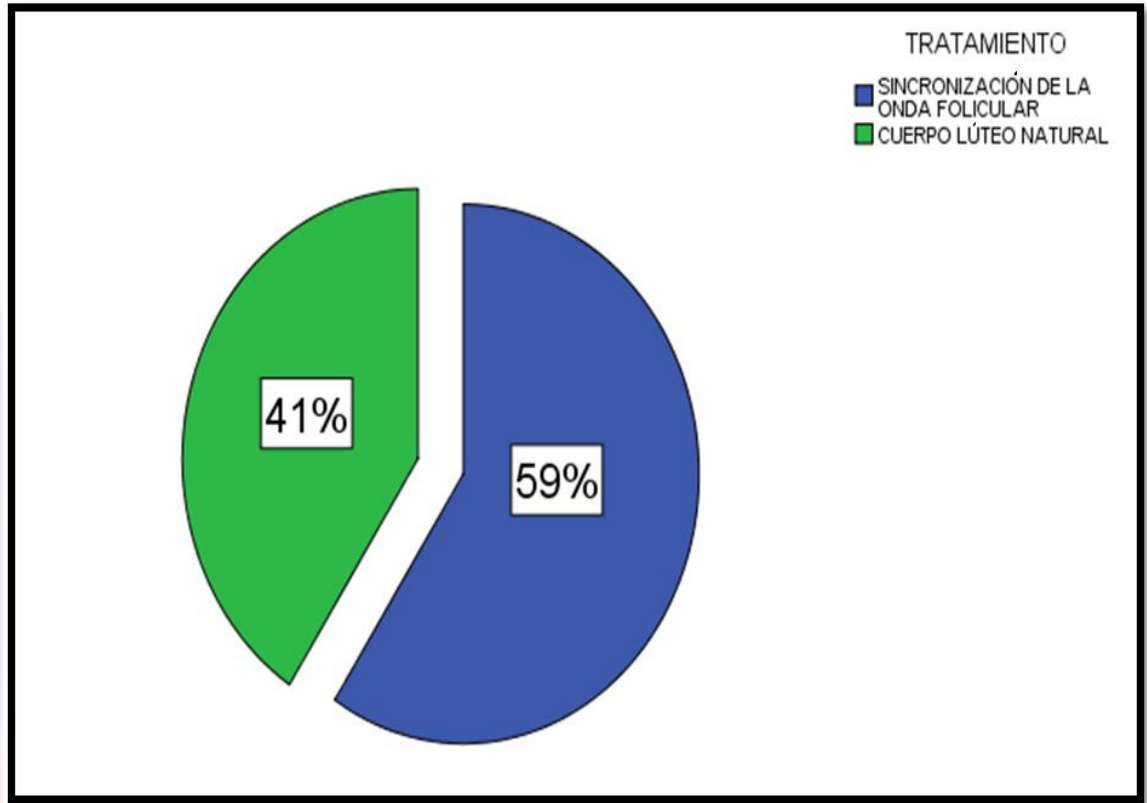
Tabla 2. Embriones obtenidos por tratamiento

TRATAMIENTOS	TOTAL DE EMBRIONES
SINCRONIZACION DE LA ONDA FOLICULAR	12
CUERPO LÚTEO NATURAL	8

Elaboración: Soria C.

Los resultados de manera descriptiva, indican una superioridad del uso del tratamiento con Sincronización de la Onda Folicular sobre el Cuerpo Lúteo Natural en la producción del número de embriones, sin considerar su estado de desarrollo y su calidad.

Gráfico 1. Porcentaje de producción de embriones según el tratamiento aplicado

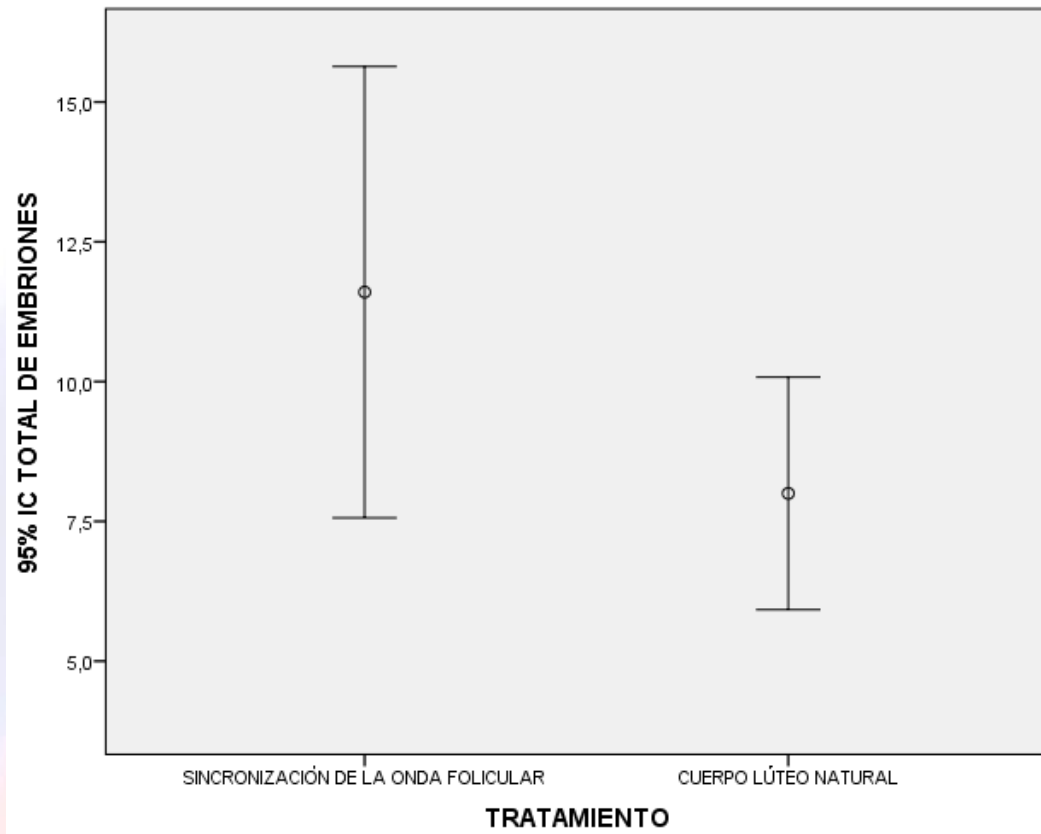


Elaboración: Soria C.

Así, la producción de embriones fue superior en casi un 20% el cual puede resultar posteriormente en una significancia estadística importante, al menos si se considera otros elementos como el estado y la calidad del embrión.



Gráfico 2. Intervalos de confianza al 95% para el número de embriones por tratamiento

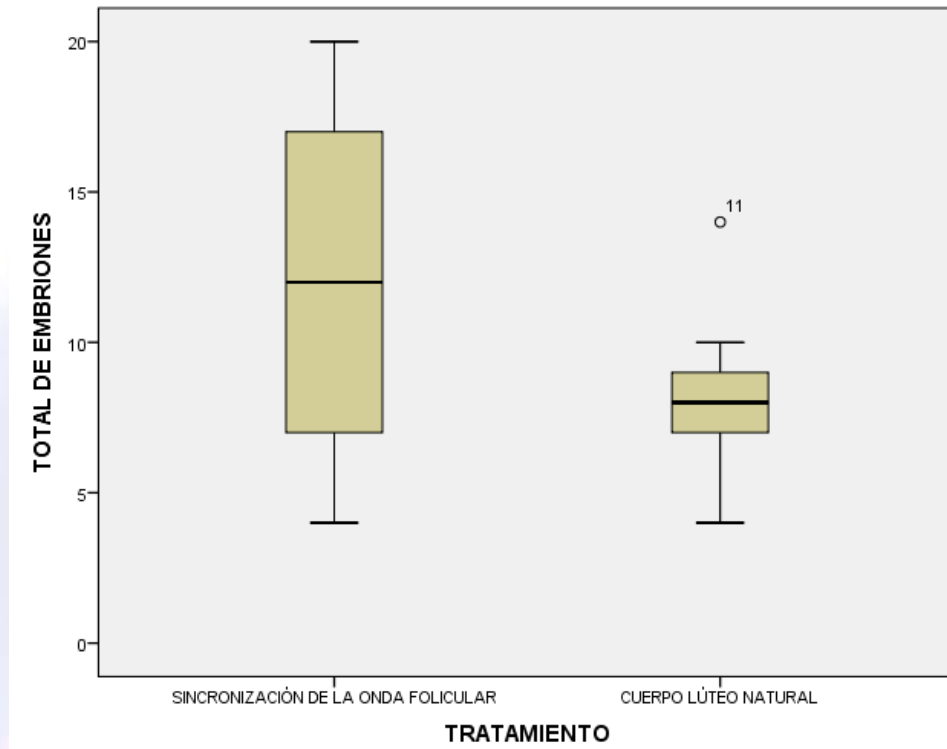


Elaboración: Soria C.

Los intervalos de confianza para el número de embriones al 5% de significancia, indican una mayor dispersión en los resultados de la aplicación del tratamiento con sincronización que con el cuerpo lúteo natural.



Gráfico 3. Diagramas de caja para el número de embriones según los tratamientos aplicados



Elaboración: Soria C.

El diagrama indica una mayor concentración de la producción de embriones según el tratamiento con cuerpo lúteo natural, alrededor de su media que con el tratamiento con sincronización de la onda folicular.¹

¹ El coeficiente de variación para la media de producción de embriones en el tratamiento de Sincronización de la onda folicular es del 49%, mientras que con cuerpo lúteo natural es del 36%



Tabla 3. Prueba “t” de Student para dos poblaciones diferentes e intervalos de confianza al 95%

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas				Prueba T para la igualdad de medias				
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
								Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	7,670	,013	1,794	18	,090	3,600	2,007	-,616	7,816
No se han asumido varianzas iguales			1,794	13,5	,095	3,600	2,007	-,720	7,920

Elaboración: Soria C.

Si estadísticamente se verifica la diferencia significativa en la producción embrionaria en los tratamientos aplicados, de acuerdo al estadístico “t” de Student con varianzas desiguales², indica que a pesar de que al 5% de significancia existe evidencia que permite indicar una igualdad estadística entre las medias de la producción embrionaria entre los dos tratamientos, sin embargo al 10% de significancia, esta hipótesis se rechaza.

² Si se revisa el valor de significancia en la tabla, la prueba de Levene, que indica como hipótesis nula la igualdad de varianzas, se rechaza a un 0,05 de significancia, por lo tanto estadísticamente las varianzas son desiguales para ambos tratamientos.



Tabla 4. Estadísticos descriptivos para el número de embriones en estado de desarrollo blastocisto

TRATAMIENTO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
SINCRONIZACION DE LA ONDA FOLICULAR	8	7,75	4,559	1,612
CUERPO LÚTEO NATURAL	10	4,20	1,751	,554

Elaboración: Soria C.

El número de embriones con un estado de desarrollo en Blastocisto, es mayor con el tratamiento de la Sincronización de la Onda Folicular que en relación del Cuerpo Lúteo, teniendo una media de producción de 7,75 embriones.

**Tabla 5. Prueba “t” de Student para dos poblaciones diferentes e intervalos de confianza al 95%**

	Prueba de Levene		Prueba T para la igualdad de medias		Sig. (bilateral)	Diferencia medias	de Error típ. de diferencia	de la 95% Intervalo de confianza para la diferencia	
	F	Sig.	t	gl				Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	8,321	,011	2,275	16	,037	3,550	1,560	,243	6,857
No se han asumido varianzas iguales			2,083	8,656	,068	3,550	1,704	-,329	7,429

Elaboración: Soria C.

Se encuentra que al 95% de confianza la diferencia que existe entre el número de embriones con ambos tratamientos no son diferentes. Sin embargo si se considera un nivel de significancia del 7% o más, esta diferencia estadísticamente es importante y es evidencia del funcionamiento de los tratamientos aplicados.³

³ Se ha procedido a tomar los estadísticos **no asumiendo varianzas iguales**, debido a que el estadístico de Levene, que contrasta la igualdad de varianzas entre las poblaciones analizadas a sido rechazado.



Tabla 6. Estadísticos descriptivos para el número de embriones en estado de desarrollo mórula

TRATAMIENTO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
SINCRONIZACION DE LA ONDA FOLICULAR	8	3,50	3,381	1,195
CUERPO LÚTEO NATURAL	8	2,75	1,165	,412

Elaboración: Soria C.

Tomando en cuenta en número de embriones en estado de desarrollo en Mórula, la producción con los dos tratamientos al parecer es estadísticamente igual, aunque los coeficientes de variación sean diferentes: con sincronización de la onda folicular se tiene casi un 100% de Coeficiente de variación, en cambio con cuerpo Lúteo Natural en cambio es de alrededor del 40%.

Tabla 7. prueba “t” de Student para dos poblaciones diferentes e intervalos de confianza al 95%

	Prueba de Levene		Prueba T para la igualdad de medias						
	igualdad de varianzas		t	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
	F	Sig.						Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	2,911	,110	,59	14	,562	,750	1,264	-1,961	3,461
No se han asumido varianzas iguales			,59	8,6	,568	,750	1,264	-2,128	3,628

Elaboración: Soria C.

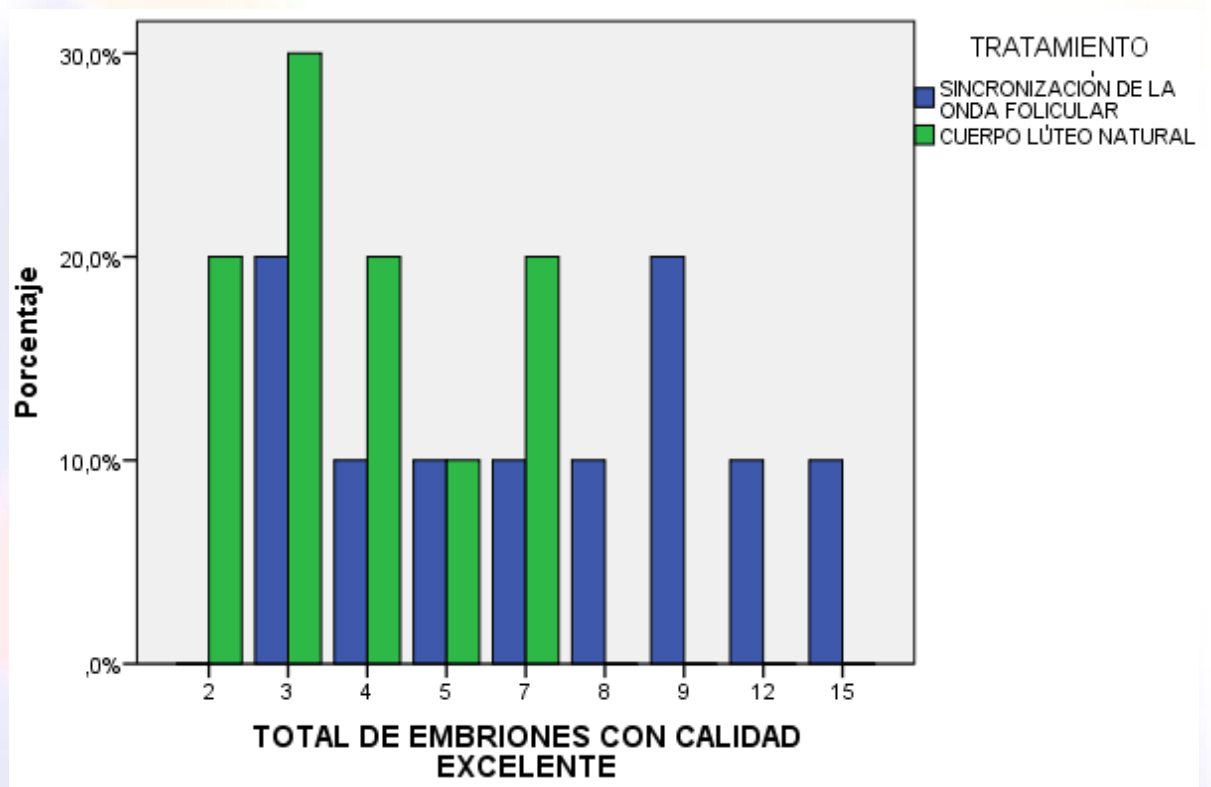
Considerando una prueba estadística al 95% de confianza, se estima que el número de embriones en estado de desarrollo en Mórula son iguales, siendo estadísticamente diferente la producción media a valores de significancia sobre el 56%.



ANALISIS CONSIDERANDO LA CALIDAD DEL EMBRIÓN

Si se tiene en cuenta la calidad del embrión, y dentro de esta la categoría de tipo excelente en la producción de embriones de acuerdo a la aplicación de los tratamientos, se verifica una significancia importante.

Gráfico 4. Número de embriones producidos de acuerdo a los tratamientos aplicados



Elaboración: Soria C.

Así se observa que el número de embriones con calidad excelente producidos con Cuerpo Lúteo Natural se concentra en las frecuencias menores, mientras que el número de embriones con calidad excelente con la Sincronización de la Onda Folicular, es más homogéneo y de mayor frecuencia.

**Tabla 8. Estadísticos descriptivos para el total de embriones con calidad excelente**

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
SOF	10	7,50	3,951	1,249	4,67	10,33	3	15
CLN	10	4,00	1,826	,577	2,69	5,31	2	7
TOTAL	20	5,75	3,492	,781	4,12	7,38	2	15

Elaboración: Soria C.

Considerando la aplicación del tratamiento SOF, se ha obtenido 7,5 embriones de calidad excelente, en cambio con CLN apenas se obtiene 4 embriones en el estado anteriormente señalado.



Tabla 9. Prueba “t” de Student para dos poblaciones diferentes e intervalos de confianza al 95%

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	90% Intervalo de confianza para la diferencia	
								Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	4,746	,043	2,543	18	,020	3,500	1,376	1,113	5,887
No se han asumido varianzas iguales			2,543	12,676	,025	3,500	1,376	1,058	5,942

Elaboración: Soria C.

Así, al 5% de significancia, existe evidencia estadística que permite asumir que la media de producción de embriones de calidad excelente es diferente entre los tratamientos aplicados, siendo superior la media con la aplicación de la sincronización con onda folicular con respecto al cuerpo lúteo natural.



Tabla 10. Estadísticos descriptivos para el total de embriones con calidad regular

TRATAMIENTO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
SINCRONIZACION				
DE LA ONDA FOLICULAR	6	3,83	2,137	,872
CUERPO LÚTEO NATURAL	10	1,60	,966	,306

Elaboración: Soria C.

También como existe evidencia de una mayor producción de embriones con calidad excelente aplicando la sincronización con onda folicular, la media de producción de estos elementos con calidad regular y con el tratamiento anteriormente citado es mayor.



Tabla 11. Prueba “t” de Student para dos poblaciones diferentes e intervalos de confianza al 95%

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
								Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	11,062	,005	2,896	14	,012	2,233	,771	,579	3,888
No se han asumido varianzas iguales			2,416	6,249	,051	2,233	,924	-,007	4,473

Elaboración: Soria C.

Aunque al 95% de confianza, las medias de producción de embriones con calidad regular es estadísticamente igual. Sin embargo si se considera un nivel de significancia del 6%, esta diferencia ya es estadísticamente importante, es decir, en otras palabras, si se aplica la sincronización con onda folicular, existe evidencia estadística que indica una producción media de embriones mayor en calidad tanto excelente así como regular a un nivel de significancia que oscila entre el 6% y el 10%.



Tabla 12. Estadísticos descriptivos para el total de embriones con calidad muerto/degenerado

TRATAMIENTO	N	Media	Desviación típ.	Error tít. de la media
SINCRONIZACION DE LA ONDA FOLICULAR	6	3,00	2,098	,856
CUERPO LÚTEO NATURAL	3	3,67	2,517	1,453

Elaboración: Soria C.

Se encuentra que el número de embriones con calidad muerto/degenerado, es aproximadamente igual en los dos tratamientos, al igual que su variación medida a través de la desviación típica. Es importante señalar sin embargo que el número de casos analizados son pocos debido al reducido número de muestras.

Tabla 13. prueba “t” de Student para dos poblaciones diferentes e intervalos de confianza al 95%

	Prueba T para la igualdad de medias								
	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas								
	F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
							Inferior	Superior	
Con varianzas iguales	,020	,891	-,424	7	,685	-,667	1,574	-4,388	3,054
Sin varianzas iguales			-,395	3,464	,716	-,667	1,687	-5,650	4,316

Elaboración: Soria C.

Los estadísticos y la estimación al 95% de confianza de embriones con calidad muerto/degenerado, indican que la producción media de embriones con esta calidad aplicando los tratamientos indicados en el estudio, son estadísticamente iguales.

**ANALISIS DE REGRESION**

La relación que existe entre el número de embriones de calidad excelente y el número total de producción de embriones se puede modelar mediante la siguiente modelo matemático:

$$TE = \beta_1 + \beta_2 \text{TOTALEM}$$

Donde:

TE= Total de embriones de calidad Excelente

TOTALEM= Total de embriones.

β_1, β_2 = Parámetros del modelo

Los resultados del modelo lineal estadístico es el siguiente:

Tabla 14. Coeficientes y estadísticos de los parámetros del modelo^a

Parámetros del Modelo	Coeficientes no estandarizados β_i	Coeficientes estandarizados Error típ.	Coeficientes tipificados Beta	t	Sig.
β_1	,856	,754		1,135	,273
β_2	,881	,111	,893	7,928	,000

a. Variable dependiente: TOTAL DE EMBRIONES CON CALIDAD EXCELENTE

Elaboración: Soria C.



Como se esperaba, la relación es positiva y directa entre el número de embriones y la calidad de estos: mientras más embriones se producen, más embriones de calidad se generan. Si se interpreta el coeficiente de pendiente, se encuentra que al incrementarse una unidad de producción de embrión, se genera casi al mismo nivel un incremento de un embrión de calidad ($\beta_2 = 0,881$).

ANOVA PARA EL CONTRASTE DEL NÚMERO DE EMBRIONES DE CALIDAD EXCELENTE CON LOS TRATAMIENTOS CLN Y SOF

Considerando el Análisis de Varianza que tiene en cuenta el número de embriones de calidad excelente por tratamiento CLN y SOF, se tienen los siguientes resultados:

Tabla 15. Análisis de varianza para el total de embriones con calidad excelente

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Por los tratamientos	61,250	1	61,250	6,466	,020
Por los errores	170,500	18	9,472		
Total	231,750	19			

Elaboración: Soria C.

Se encuentran los mismos resultados que con el contraste “t”, medible en el valor “p” de significancia, siendo por ello que al 5% de significancia el número de



embriones de calidad excelente producida con los dos tratamientos son diferentes. Se encuentra además que la varianza del modelo es aproximadamente de 9,472.

PRUEBA DE NORMALIDAD PARA LOS RESIDUOS DEL MODELO

Una vez obtenidos los residuos del modelo, se estimó la normalidad de los mismos obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 16. Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		Unstandardized Residual
N		20
Parámetros normales ^{a,b}	Media	0E-7
	Desviación típica	2,99561082
	Absoluta	,108
Diferencias más extremas	Positiva	,108
	Negativa	-,069
Z de Kolmogorov-Smirnov		,484
Sig. asintót. (bilateral)		,973

a. La distribución de contraste es la Normal.

b. Se han calculado a partir de los datos.

Elaboración: Soria C.

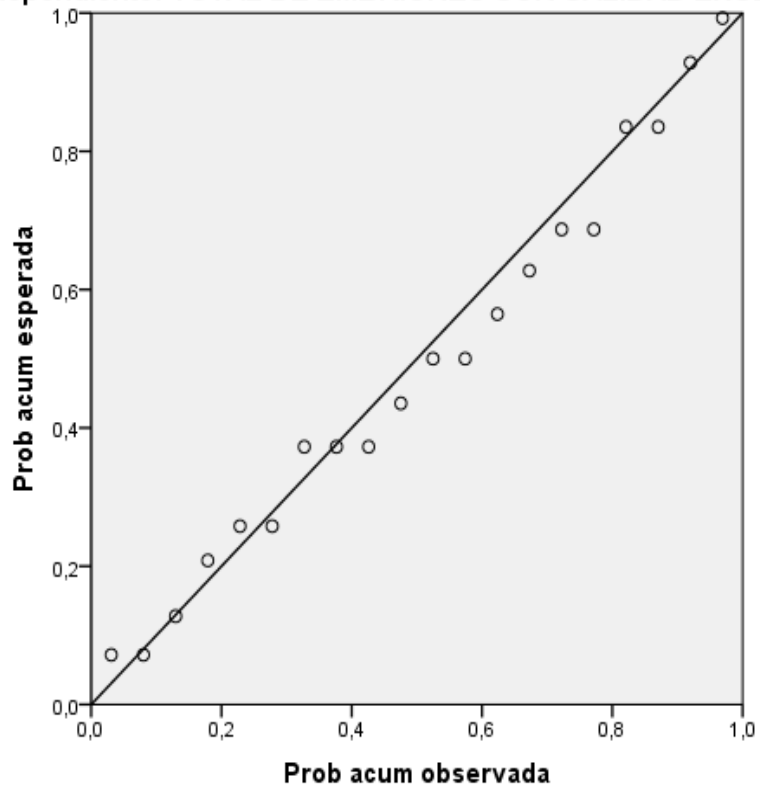
Por lo tanto la hipótesis nula que indica que los residuos siguen una distribución normal, no es rechazada al 5% de significancia.



Gráfico 5. Verificación de la normalidad de residuos

Gráfico P-P normal de regresión Residuo tipificado

Variable dependiente: TOTAL DE EMBRIONES CON CALIDAD EXCELENTE



Elaboración: Soria C.

Así, los residuos se distribuyen normalmente alrededor de la línea de probabilidad acumulada, por ello no se rechaza la hipótesis nula de la distribución normal de estos valores.



5.1 DISCUSIÓN

Estado y Calidad de Embrión

*Singh y col en el 2004 observaron que el número de folículos ≥ 2 milímetros presentes al inicio de una onda folicular se correlaciona positivamente con la respuesta superovulatoria.

Si comparamos con esta investigación las vacas aplicados los tratamientos con folículos ≥ 2 milímetros fueron las que mayor cantidad y calidad de embriones (blastocisto y mórulas excelentes), por lo tanto tuvieron una mejor respuesta a la superovulación.

Tratamiento

*Arora y Ranina en el 2004, manifiestan que el nivel de progesterona al comienzo del tratamiento y al momento de efectuar la recolección de los embriones está correlacionado positivamente con la cantidad y calidad de los mismos.

En la investigación se obtuvo variación significativa entre los tratamientos SOF con 12 embriones Y CLN 8, debió a los niveles de progesterona al comienzo del tratamiento y al momento de la recolección de embriones que fueron de excelente calidad.

*Donaldson en 1984 demostró que la respuesta superovulatoria resulta muy variable en un estudio retrospectivo que incluyó 1263 donantes, el autor encontró que solamente el 68% de la hembras inducidas a superovular produjeron embriones transferibles.

En esta investigación todas las 20 hembras en estudio respondieron al tratamiento y hubo una respuesta del 100% con embriones transferibles.



*Mapletoft y Murphy en 1987 quienes consideraron que el análisis de la variabilidad se efectúa por un lado a los tratamientos hormonales y por otro lado la variabilidad inherente a las donantes y a su medio ambiente.

En la investigación realizada los resultados obtenidos produjeron una variabilidad entre tratamientos hormonales y al comportamiento propio del animal.



VI CONCLUSIONES

NÚMERO DE EMBRIONES SEGÚN TRATAMIENTOS

El número total de embriones es mayor cuando se utiliza con la superovulación de la onda folicular (SOF), habiendo una diferencia de 3.6 embriones entre las medias del número de embriones por tratamiento, siendo la producción obtenida de 12 embriones con la SOF y con cuerpo lúteo natural (CLN) de 8 embriones.

Al 95% de confianza el número de embriones obtenidos es igual aplicando el tratamiento SOF y CLN. Sin embargo, al 90% de confianza la diferencia en el número de embriones obtenida con la aplicación de los dos tratamientos es significativa.

ESTADO DEL EMBRION

El número de embriones en estado de desarrollo de blastocisto al 5% de significancia es estadísticamente igual al aplicar los dos tratamientos, siendo superior el tratamiento SOF, aunque al 90% de confianza la diferencia entre el número de estos embriones es significativa.

Mientras tanto, si se considera el estado de desarrollo del embrión en Mórula, el número de estos es estadísticamente igual, si se considera un nivel de significancia del 0,05.

CALIDAD DEL EMBRION

Existe al 0,05 de significancia, evidencia que indica que el número de embriones producidos con SOF es mayor al número de embriones con CLN con respecto a la calidad excelente. Es decir, la diferencia entre el número de embriones de calidad excelente, de 3,5 es estadísticamente significativa.

Si se considera la calidad regular del embrión, se encuentra que al 0,05 de significancia, la diferencia de 2,23 embriones, no es significativa



estadísticamente, pero si se determina un valor de significancia del 0,10. Esta diferencia es importante.

Cuando se toma en cuenta la calidad del embrión en estado Muerto/Degenerado, se encuentra que al 95% de confianza, la diferencia del número de embriones en los dos tratamientos considerados, no es significativo estadísticamente.

Se sugiere que para estudios posteriores, dada la ambivalencia de algunas conclusiones probablemente por los pocos casos estudiados, se sugiere incrementar el número de estas observaciones consideradas para la investigación.

VII RECOMENDACIONES

- Analizar los registros reproductivos para seleccionar vacas con una adecuada fertilidad.
- Comenzar los protocolos de superovulación con vacas que tengan una condición corporal entre 2.75 y 3.75.
- Al iniciar los tratamientos de superovulación realizar previamente una ecografía de los ovarios y observar que exista gran cantidad de folículos en crecimiento del mismo tamaño aproximadamente de 2 a 5 milímetros de diámetro.
- Al iniciar el protocolo de superovulación con cuerpo lúteo natural (CLN), tomar en cuenta que no exista un folículo dominante en fase de desarrollo.
- Profundizar investigaciones sobre el tema probando nuevos protocolos de superovulación.

VIII BIBLIOGRAFÍA

- Ake, J., Alfaro, M., Aguayo, A., & Holy, L. (13 de Agosto de 1998). *Concentración plasmática de progesterona y producción embrionaria, en vacas superovuladas bajo condiciones tropicales*. Recuperado el 25 de Abril de 2012, de Departamento de Reproducción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Agosto 13,1998, Vol. 30(1),99.:<http://www.new.medighapic.com/cgi-bin/contenido.cgi?IDREVISTA39&IDPUBLICACION=1557>
- Alberio, R. (2008). *Manual de Transferencia de Embriones*. Balcarce: INTA.
- Becaluba, F. (2007). *Factores que afectan la superovulación en bovino*. Recuperado el 11 de Abril de 2012, de: http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/transplante_embriionario/17-superovulacion.pdf
- Bó, G., Guerrero, C., A, T., & Mapletoft, R. (Julio de 2011). *4. NUEVOS TRATAMIENTOS HORMONALES PARA LA SUPEROVULACIÓN DE DONANTES DE EMBRIONES BOVINOS*. Recuperado el Mayo de 2012, de http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/transplante_embriionario/33-tratamientos_superovulacion.pdf
- Cavestany, D. (2010). *Inducción de celos e inseminación artificial en vacas de leche en anestro. Una nueva aproximación a un viejo problema*. Cavestany, D.*. 2010. *Taurus*, Bs. As., 12(45):24-34. *DVM, MSc, PhD. Departamento de Reproducción, Facultad de Veterinaria; INIA La Estanzu*. Recuperado el 11 de Abril de 2012
- Curtis, J. (2009). *Procedimiento de transferencia de embriones en bovinos*. Manhattan: AGTECH.
- De Luca, L., S, D., & Castrillón, M. (16 de Octubre de 2011). *Respuesta a la superovulación y calidad de los embriones en bovinos lecheros de elevado mérito genético, uso de diferentes protocolos*. Recuperado el 12 de Junio de 2012, de <http://www.engormix.com/MAGanaderia-carne/genetica/foros/respuesta-superovulacion-calidad-embriiones-t22419/103-p0.htm>
- 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*. Recuperado el 12 de Abril de 2012, de Maestría en salud animal. Bogotá D.C.2010: <http://www.bdigital.unal.edu.co/3775/1/780174.2010.pdf>
- Espinosa, M. (2010). *Efecto de diferentes protocolos para IATF sobre las tasa de preñez aplicados en ganado lechero*. Recuperado el 6 de Abril de 2012
- Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce. (2009). *Superovulación y transferencia de embriones bovinos*. Balcarce: INTA.
- García, A., Villareal, J., Albrecht, A., & Brogliatti, G. (29 de Junio 29-30, Julio 1 de 2007). *Respuesta ovárica y número de embriones en donantes superestimuladas con diferente score corporal*. Recuperado el 15 de Abril de 2012, de VII Simposio Internacional de Reproducción Animal: <http://es.scribd.com/doc/71924931/Simposio-Internacional-de-Reproduccion-Animal>
- García, A., Villareal, J., Albrecht, A., & Brogliatti, G. (Junio 29-30, Julio 1 de 2007). *Respuesta ovárica y número de embriones en donates superestimuladas con o sin registro de celo previo*. Recuperado el 15 de Abril de 2012, de VII Simposio Internacional de reproducción animal: <http://es.scribd.com/doc/71924931/Simposio-Internacional-de-Reproduccion-Animal>
- García, R. (2005). *Fisiología Reproductiva del Bovino*. Recuperado el 14 de Septiembre de 2012, de http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/71-fisiologia_reproductiva_del_bovino.pdf
- Garzón, N., Urrego, R., & Giraldo, C. (Julio – Diciembre de 2007). *Algunos factores que afectan los tratamientos de superovulación en la transferencia de embriones bovinos*. Recuperado el 10 de Abril de 2012, de <http://www.revistamvzces.com/revistas/vol2no2/articulo8.pdf>
- Gorlach, A. (1999). *Transferencia de embriones en el ganado vacuno*. Zaragoza: ACRIBIA.
- Hincapie, J., & Brito, E. (2005). *Reproducción Animal Aplicada Fundamentos de Fisiología y Biotecnología*. Tegucigalpa: Litocom.
- Maldonado Estrada, J. (Julio-Septiembre de 2008). *Racionalidad de los esquemas de superovulación y sincronización en la transferencia de embriones en bovinos: ¿terapéutica basada en la evidencia o ausencia de ética?* Recuperado el 15 de Abril de 2012, de Racionalidad de los esquemas de superovulación y sincronización en la transferencia de embriones en bovinos: ¿terapéutica basada en la evidencia o ausencia de ética?. Rev Colom CiencPecua v.21 n.3 Medellín jul./sep. 2008.



- Ministerio de Coordinación de la Política y Gobiernos Autónomos Descentralizados. (FEBRERO de 2011). *Código Orgánico de Organización Territorial, Autonomía y Descentralización. COOTAD*. Recuperado el 20 de DICIEMBRE de 2011, de <http://www.mcpolitica.gob.ec/mp3/COOTAD.pdf>
- Munar, C., Mujica, I., Martín, E., & Texeira, M. (2002). *Protocolos de Superovulación con FSH:LH combinados con ECG y GNR para suplir supuestas carencias de LH durante la maduración folicular*. Recuperado el 12 de Noviembre de 2012, de <http://www.munar.com.ar/descargas/Protocolos.pdf>
- P, B., & JG, M. (8 de Noviembre de 2010). *Racionalidad de los esquemas de superovulación y sincronización en la transferencia de embriones en bovinos: ¿terapéutica basada en la evidencia o ausencia de ética?* Recuperado el 18 de Mayo de 2012, de <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-carne/genetica/articulos/transferencia-de-embriones-en-vacas-esquemas-de-superovulacion-y-sincronizacion-t3025/103-p0.htm>
- Palma, G. (2008). *Biotecnología de la Reproducción*. Mar del Plata: Producción Gráfica Integral.
- Paula, B., & Estrada, J. (2008). *Análisis de costos de esquemas de transferencia de embriones bovinos utilizados en Colombia*. Recuperado el 25 de Junio de 2012, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-06902008000300005&script=sci_abstract&tlng=es
- Sartori, R. (2011). *Fisiología de la Reproducción*. Goias.
- Secretaria de Agricultura, Ganaderia, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Estado de Chiapas. (Octubre de 2006). *Manual de transferencia de embriones en el ganado bovino*. Recuperado el 6 de Abril de 2012



IX ANEXOS

Anexo 1. Estadísticos para la variable número de embriones

1.1 ESTADISTICOS DESCRIPTIVOS PARA EL NUMERO DE EMBRIONES

Descriptivos					
	TRATAMIENTO		Estadístico	Error típ.	
TOTAL DE EMBRIONES	SINCRONIZACION DE LA ONDA FOLICULAR	Media	11,60	1,784	
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	7,56	
			Límite superior	15,64	
		Media recortada al 5%	11,56		
		Mediana	12,00		
		Varianza	31,822		
		Desv. típ.	5,641		
		Mínimo	4		
		Máximo	20		
		Rango	16		
		Amplitud intercuartil	11		
		Asimetría	-,048	,687	
		Curtosis	-1,340	1,334	
		CUERPO LÚTEO NATURAL	Media	8,00	,919
	Intervalo de confianza para la media al 95%		Límite inferior	5,92	
			Límite superior	10,08	
	Media recortada al 5%		7,89		
	Mediana		8,00		
	Varianza		8,444		
	Desv. típ.		2,906		
	Mínimo		4		
	Máximo		14		
Rango	10				
Amplitud intercuartil	3				
Asimetría	,543	,687			
Curtosis	1,256	1,334			



1.2 PRUEBAS DE NORMALIDAD

Pruebas de normalidad

	TRATAMIENTO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
TOTAL DE EMBRIONES	SINCRONIZACION DE LA ONDA FOLICULAR	,165	10	,200*	,936	10	,511
	CUERPO LUTEO NATURAL	,165	10	,200*	,925	10	,402

*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors

1.3 DIAGRAMA DE TALLO Y HOJAS

TOTAL DE EMBRIONES Stem-and-Leaf Plot for

TRATAMIENTO= SINCRONIZACION DE LA ONDA FOLICULAR

Frequency Stem & Leaf

2,00 0 . 44

2,00 0 . 79

3,00 1 . 044

2,00 1 . 77

1,00 2 . 0

Stem width: 10

Each leaf: 1 case(s)

TOTAL DE EMBRIONES Stem-and-Leaf Plot for

TRATAMIENTO= CUERPO LUTEO NATURAL

Frequency Stem & Leaf

2,00 0 . 44

6,00 0 . 778899

1,00 1 . 0

1,00 Extremes (>=14)

Stem width: 10

Each leaf: 1 case(s)



Anexo 2. Estadísticos para la variable calidad del embrión

2.1 ESTADISTICOS DESCRIPTIVOS PARA LA CALIDAD DE EMBRIONES

Descriptivos					
	TRATAMIENTO		Estadístico	Error típ.	
TOTAL DE EMBRIONES CON CALIDAD EXCELENTE	SINCRONIZACION DE LA ONDA FOLICULAR	Media	7	2,517	
		Intervalo de confianza para la media 95%	Límite inferior	-3,83	
			Límite superior	17,83	
		Media recortada al 5%	.		
		Mediana	5		
		Varianza	19		
		Desv. típ.	4,359		
		Mínimo	4		
		Máximo	12		
		Rango	8		
		Amplitud intercuartil	.		
		Asimetría	1,63	1,225	
		Curtosis	.	.	
		CUERPO LÚTEO NATURAL	Media	5,67	1,333
	Intervalo de confianza para la media 95%		Límite inferior	-0,07	
			Límite superior	11,4	
	Media recortada al 5%		.		
	Mediana		7		
	Varianza		5,333		
	Desv. típ.		2,309		
	Mínimo		3		
	Máximo		7		
Rango	4				
Amplitud intercuartil	.				
Asimetría	-1,732	1,225			
Curtosis	.	.			



Continuación de la Tabla 2.1

Descriptivos					
	TRATAMIENTO		Estadístico	Error típ.	
TOTAL DE EMBRIONES CON CALIDAD REGULAR	SINCRONIZACION DE LA ONDA FOLICULAR	Media	5	1	
		Intervalo de confianza para la media 95%	Límite inferior	0,7	
			Límite superior	9,3	
		Media recortada al 5%	.		
		Mediana	6		
		Varianza	3		
		Desv. típ.	1,732		
		Mínimo	3		
		Máximo	6		
		Rango	3		
		Amplitud intercuartil	.		
		Asimetría	-1,732	1,225	
		Curtosis	.	.	
	CUERPO LÚTEO NATURAL	Media	1,33	0,333	
		Intervalo de confianza para la media 95%	Límite inferior	-0,1	
			Límite superior	2,77	
		Media recortada al 5%	.		
		Mediana	1		
		Varianza	0,333		
		Desv. típ.	0,577		
		Mínimo	1		
		Máximo	2		
		Rango	1		
Amplitud intercuartil	.				
Asimetría	1,732	1,225			
Curtosis	.	.			

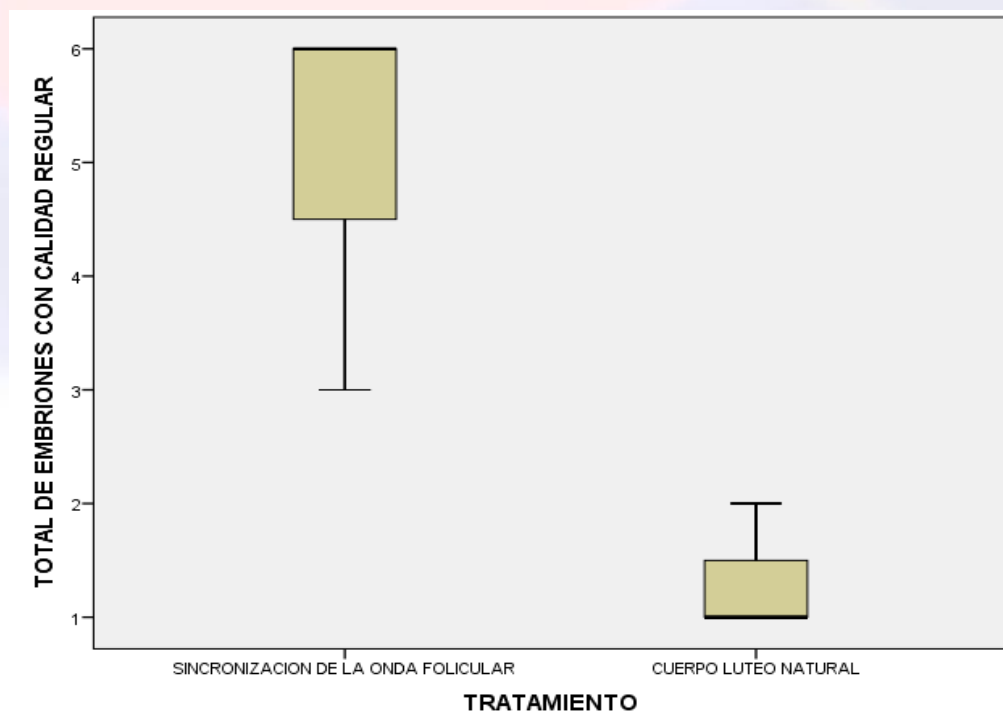
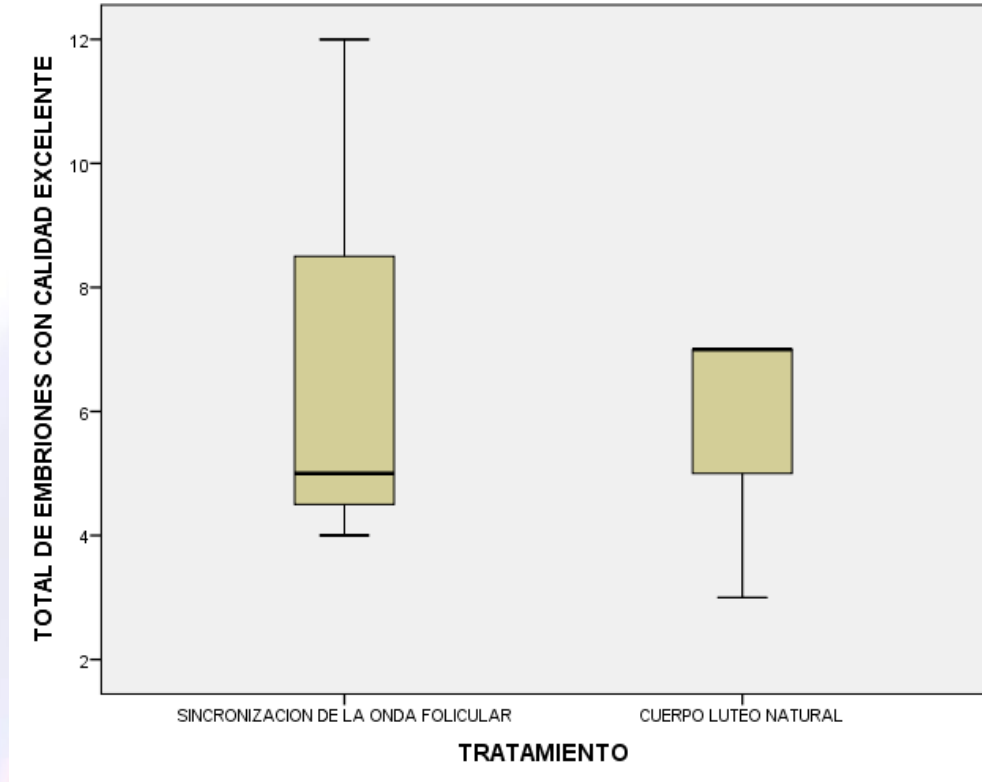


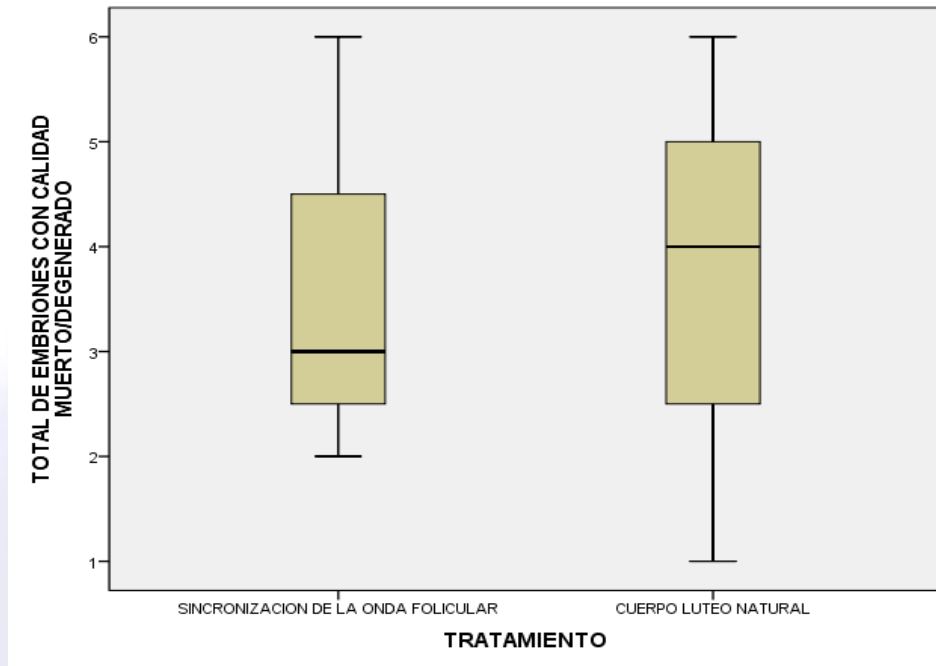
Continuación de la Tabla 2.1

Descriptivos					
	TRATAMIENTO		Estadístico	Error típ.	
TOTAL DE EMBRIONES CON CALIDAD MUERTO/DEGENERADO	SINCRONIZACION DE LA ONDA FOLICULAR	Media	3,67	1,202	
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	-1,5	
			Límite superior	8,84	
		Media recortada al 5%	.		
		Mediana	3		
		Varianza	4,333		
		Desv. típ.	2,082		
		Mínimo	2		
		Máximo	6		
		Rango	4		
		Amplitud intercuartil	.		
		Asimetría	1,293	1,225	
		Curtosis	.	.	
		CUERPO LUTEO NATURAL	Media	3,67	1,453
	Intervalo de confianza para la media al 95%		Límite inferior	-2,58	
			Límite superior	9,92	
	Media recortada al 5%		.		
	Mediana		4		
	Varianza		6,333		
	Desv. típ.		2,517		
	Mínimo		1		
	Máximo		6		
Rango	5				
Amplitud intercuartil	.				
Asimetría	-0,586	1,225			
Curtosis	.	.			



2.2 DIAGRAMAS DE CAJA





Anexo 3. Estadísticos de la Regresión

3.1 Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	,893 ^a	,797	,784	1,682

a. Variables predictoras: (Constante), EMBRIONES EN ESTADO DE DESARROLLO BLASTOCISTO

3.2 ANOVA^a

Modelo		Suma de cuadrados	de gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	177,705	1	177,705	62,850	,000 ^b
	Residual	45,239	16	2,827		
	Total	222,944	17			

a. Variable dependiente: TOTAL DE EMBRIONES CON CALIDAD EXCELENTE

b. Variables predictoras: (Constante), EMBRIONES EN ESTADO DE DESARROLLO BLASTOCISTO



Anexo 4. Hoja de Campo

1.- Información General

a) Fecha: _____

f) Raza: _____

b) Donante N°: _____

g) Edad: _____

c) Arete/Nombre: _____

h) Propietario(s): _____

d) Hacienda: _____

i) Veterinario(s): _____

e) Sector(s): _____

2.- Superovulación:

a) Hormona: _____

b) Semen Usado: _____

c) Protocolo: _____

FECHA	DIA	HORA	TRATAMIENTOS



Ecografía Previa Colecta

OVARIOS	DERECHO	IZQUIERDO
#Folículos		
#Cuerpos Lúteos		

4.- Colecta de Embriones:

a) Fecha: _____ b) Hora: _____

c) # Total de Embriones Colectados: _____

5.- Evaluación Morfológica:

Estado de Desarrollo	
N°	Estado
1	No fecundado
2	2-a 12-celulas
3	Mórula Temprana
4	Mórula
5	Blastocisto Temprano
6	Blastocisto
7	Blastocisto Expandido
8	Blastocisto Eclosionado
9	Blastocisto Eclosionado Expandido

Calidad de Embriones	
Codigo 1	Excelente o Bueno
Codigo 2	Regular
Codigo 3	Malo
Codigo 4	Muerto/Degenerado

a) Códigos para Evaluacion

# Embrión	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Estado																									
Calidad																									

6.- Transferencia de Embriones:

a) #Embriones transferidos fresco: _____



b) #Embriones Congelados: _____

b.1) Método: Etilenglicol:

Vitrificación:

DR. CARLOS SORIA PARRA



Anexo 5. Evidencias

