

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**

**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS  
NATURALES**



**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

**TESIS DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO  
VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TITULADO “EFECTO DE LA INMUNOESTERILIZACIÓN COMO  
ALTERNATIVA A LA ESTERILIZACIÓN QUIRÚRGICA TRADICIONAL EN  
DIFERENTES PARÀMETROS HORMONALES EN OVINOS (Ovis aries) COMO  
MODELO EXPERIMENTAL ANIMAL”**

**POSTULANTE**

**JADIRA ALEXANDRA TERÁN SINCHIGUANO**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**Dr. MIGUEL ÀNGEL GUTIERREZ REINOSO**

**LATACUNGA – ECUADOR**

**2015**

## **AUTORÍA**

Yo, Jadira Alexandra Terán Sinchiguano con CI. N° 0502762800, declaro que el trabajo descrito es de mi completa autoría, que he consultado las referencias bibliográficas y sitios web.

Que los criterios emitidos en el presente trabajo de investigación, contenidos, ideas, análisis, conclusiones y propuestas son de exclusiva responsabilidad del autor.

.....  
Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

## **AVAL DEL DIRECTOR**

HONORABLE CONSEJO ACADÉMICO DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI.

De mi consideración:

Cumpliendo con lo estipulado en el Reglamento del Curso Profesional de la Universidad Técnica de Cotopaxi, Capítulo V, (Art. 9 literal f), me permito informar que el postulante JADIRA ALEXANDRA TERÁN SINCHIGUANO ha desarrollado su Tesis de Grado de acuerdo al planteamiento formulado en el Anteproyecto de Tesis con el tema: **“EFECTO DE LA INMUNOESTERILIZACIÓN COMO ALTERNATIVA A LA ESTERILIZACIÓN QUIRÚRGICA TRADICIONAL EN DIFERENTES PARÁMETROS HORMONALES EN OVINOS (*Ovis aries*) COMO MODELO EXPERIMENTAL ANIMAL”**, cumpliendo sus objetivos respectivos.

En virtud de lo antes expuesto, considero que la presente Tesis de Grado se encuentra habilitada para presentarse al acto de defensa.

Latacunga, del 2015

EL DIRECTOR

.....  
Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

**DIRECTOR DE TESIS**

## **CARTA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TESIS**

En calidad de Miembros del Tribunal de la Tesis de Grado titulada: “Efecto de la inmunoesterilización como alternativa a la esterilización quirúrgica tradicional en diferentes parámetros hormonales en ovinos (*Ovis Aries*) como modelo experimental animal”.

Presentado por la estudiante, Terán Sinchiguano Jadira Alexandra, como requisito previo a la obtención del grado de Médico Veterinario Zootecnista de acuerdo con el Reglamento de Títulos y Grados, consideramos que el trabajo mencionado reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometidos a la presentación pública.

**PRESIDENTE:** Dra. Patricia Marcela Andrade Aulestia .....

**OPOSITORA:** MVZ. Paola Jael Lascano Armas .....

**MIEMBRO:** Dr. Luis Alonso Chicaiza Sánchez .....

## **AVAL DE TRADUCCION**

## AGRADECIMIENTO

A Dios por bendecirme con la, vida, salud, sabiduría para enrumbarme a la superación personal con humildad, que me permite ver en el panorama profesional, con ingenio y conocimiento, a mi Esposo por la comprensión y tiempo cedido a mi educación, a mi querida hija que me permitió estar ausente de mi responsabilidad por un corto periodo. A mi madre un ser sencillo, llena de fuerza para superarse, la cual es mi principal inspiración de superación, abnegación y perseverancia.

Mi más sincero sentimiento de gratitud y respeto a todos y cada uno de los docentes, que desinteresadamente con sus enseñanzas influyeron significativamente a mi formación profesional. Y de manera especial un agradecimiento total a mi director de tesis Dr. Miguel Gutiérrez Reinoso, un especial e infinito agradecimiento a Manual Garcia Herreros PhD. como asesor científico de la Senescyt, a los honorables miembros de mi respectivo tribunal Dra. Marcela Andrade, Dr. Alonso Chicaiza, Mvz Paola Lascano, una profunda gratitud por el apoyo y la predisposición al Dr. PhD Luis Ramos director de Laboratorio Agrocalidad Quito- Ecuador, Dr. Nelson Cabrera. Dr. Jorge Espinosa. Dr. Pedro Aponte, Lcda. Margoth Barrionuevo Dr. Patricio Sandoval por la apertura hacia los tesisistas, gracias por abrirnos las puertas para concluir con el experimento, a mis compañeros (as) especialmente a Mvz. Edison Sánchez y demás quienes me ayudaron en el desarrollo de la misma, y de dieron un aliento para seguir adelante y cumplir con mis objetivos gracias

Por ultimo quiero agradecer a ti querida **“UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI”**, a la Carrera de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales que me abristeis tus puertas para mi formación profesional, quien dio a cumplir con mis metas y sueños aneados.

*Jadira Alexandra Terán Sinchiguano*

## *ÍNDICE*

### **ÍNDICE DE PREELIMINARES.**

PORTADA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI .....	i
AUTORÍA .....	ii
AVAL DEL DIRECTOR.....	iii
CARTA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TESIS .....	iv
AVAL DE TRADUCCION.....	v
AGRADECIMIENTO .....	vi
<i>ÍNDICE</i> .....	<i>vii</i>
RESUMEN .....	xxi
ABSTRACT .....	xxii
INTRODUCCIÓN.....	xxiii
<i>Objetivo general:</i> .....	<i>xxiv</i>
<i>Objetivos específicos:</i> .....	<i>xxiv</i>

<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>1</b>
1.    Marco teórico.....	1
<b>1.1 Anatomía y fisiología del aparato reproductor del macho ovino .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1.1. Testículos .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1.2 Estructura de los testículos.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1.3. Parénquima testicular.....</b>	<b>3</b>
1.1.3.1. Tubos seminíferos contorneados .....	3
1.1.3.2 Los túbulos seminíferos rectos .....	3
1.1.3.3 La red del testículo .....	4
<b>1.1.4. Funciones de los testículos.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.5. El epidídimo.....</b>	<b>5</b>
1.1.5.1. Las funciones epidídimo.....	6
<b>1.1.6. Conductor deferente.....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.7. Uretra.....</b>	<b>8</b>
<b>1.1.8. Glándulas anexas.....</b>	<b>8</b>
1.1.8.1. Vesículas seminales.....	8
1.1.8.2. Próstata.....	8
1.1.8.3. Glándulas De Cowper.....	9
<b>1.2. Endocrinología del aparato reproductor.....</b>	<b>9</b>
1.2.1 Eje hipotálamo-hipófisis-gónadas.....	9
1.2.2. Gonadotropinas pituitaria .....	10
1.2.3. Gónadas masculinas y corteza suprarrenal .....	10
<b>1.3. Castración quirúrgica (orquitectomía).....</b>	<b>11</b>



1.3.1. Castración pre escrotal abierta .....	11
<b>1.4.    Inmunocastración o castración inmunológica.....</b>	<b>12</b>
1.4.1. Composición de la vacuna .....	12
1.4.2. Modo de acción.....	13
1.4.3. Dosis y Administración .....	13
1.4.4. Contraindicaciones .....	13
<b>1.5.    Técnica histológica.....</b>	<b>14</b>
1.5.1. Método de fijación natural.....	14
1.5.1.1. La congelación rápida. ....	14
1.5.1.2. La criodesecación.....	14
1.5.2. Método de fijación químicos. ....	14
1.5.2.1. Inmersión. ....	14
1.5.2.2 Perfüsión. ....	15
1.5.3. Fijadores que se usan para los tejidos.....	15
1.5.3.1 Alcohol etílico.....	15
1.5.3.2 Formaldehído. ....	16
1.5.4. Inclusión en parafina .....	16
1.5.5. Corte del bloque histológico.....	17
1.5.5.1 Micrótopo para parafina.....	17
1.5.5.2 Micrótopo de congelación. ....	18
1.5.6. Tinción.....	18
1.5.6.1 Tinción general. ....	18
<b>CAPÍTULO II .....</b>	<b>19</b>
<b>1.    Materiales y métodos .....</b>	<b>19</b>

<b>2.1</b>	<b><i>Características del área experimental</i></b> .....	<b>19</b>
2.1.1.	<i>Ubicación política</i> .....	19
<b>2.2.</b>	<b><i>Recursos materiales</i></b> .....	<b>20</b>
2.2.1.	<i>Materiales de oficina</i> .....	20
2.2.2.	<i>Materiales de Campo</i> .....	20
2.2.3.	<i>Biológicos</i> .....	21
2.2.4.	<i>Equipo y materiales de laboratorio</i> .....	21
2.2.5.	<i>Reactivos</i> .....	21
<b>2.3.</b>	<b><i>Tipos de investigación</i></b> .....	<b>22</b>
2.3.1	<i>Investigación Descriptiva</i> .....	22
2.3.2.	<i>Investigación Explorativa</i> .....	22
2.3.3.	<i>Investigación explicativa</i> .....	22
<b>2.4.</b>	<b><i>Métodos y técnicas de investigación</i></b> .....	<b>23</b>
2.4.1	<i>Método experimental</i> .....	23
2.4.2.	<i>Método inductivo</i> .....	23
2.4.3.	<i>Método Deductivo</i> .....	24
2.4.4.	<i>Técnicas empleadas</i> .....	24
2.4.4.1.	<i>Técnica de Observación</i> .....	24
2.4.4.2.	<i>Técnica de fichaje</i> .....	25
<b>2.5.</b>	<b><i>Diseño experimental</i></b> .....	<b>25</b>
<b>2.6.</b>	<b><i>Unidad experimental</i></b> .....	<b>26</b>
2.6.1	<i>Tratamientos</i> .....	26
2.6.1 .1	<i>Tratamiento 1</i> .....	26
2.6.1.2	<i>Tratamiento 2</i> .....	26

<b>2.7</b>	<b><i>Manejo del ensayo</i></b> .....	<b>27</b>
2.7.1.	<i>Selección de los animales, distribución e inicio de la fase de experimental</i> .....	27
2.7.2.	<i>Toma de datos e identificación a cada grupo</i> .....	28
2.7.3.	<i>Toma de muestras sanguíneas</i> .....	28
2.7.4.	<i>Aplicación de la vacuna anti – GnRH</i> .....	29
2.7.5.	<i>Grupo de castración al inicio</i> .....	29
2.7.6.	<i>Manejo del Grupo testigo</i> .....	29
2.7.7.	<i>Grupo innumoesterilizado (IE)</i> .....	29
2.7.8.	<i>Proceso para realizar el estudio histológico</i> .....	30
2.7.8.1.	<i>Proceso de fijación de los testículos para el respectivo estudio</i> .....	30
2.7.8.2.	<i>Deshidratación de la muestra e inclusión en parafina</i> .....	31
2.7.8.3.	<i>Inclusión en parafina líquida y formación del bloque.</i> .....	32
2.7.8.4.	<i>Corte mediante micrótopo para parafina.</i> .....	32
2.7.8.5.	<i>Tinción</i> .....	33
<b>CAPÍTULO III</b> .....		<b>35</b>
<b>3.</b>	<b><i>Análisis de los resultados</i></b> .....	<b>35</b>
3.1.	<i>Niveles de concentración hormonal</i> .....	35
3.2.	<i>Resultados de los exámenes hormonales DE FSH</i> .....	40
3.3	<i>Cuadro de análisis de la Testosterona</i> .....	45
3.4	<i>Resultados de los exámenes de cortisol</i> .....	52
3.5	<i>Morfología testicular (MT), contorno y largo en (cm) por semanas</i> .....	58
3.6.	<i>Peso testicular de los tres grupos experimentales t1, t2 y t3</i> .....	84
3.7	<i>Estudio histológico</i> .....	86

<i>3.8 Cuadro de análisis de costo</i> .....	89
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>91</b>
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>92</b>
<b>Bibliografía</b> .....	<b>93</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>99</b>

## ***ÍNDICE DE CUADROS***

<b>Cuadro N°1</b> Esquema del análisis de varianza .....	26
<b>Cuadro N°2</b> Resumen de tratamientos.....	27
<b>Cuadro N°3</b> Identificación de grupos.....	88
<b>Cuadro N°4</b> Proceso de inclusión de parafina.....	31
<b>Cuadro N° 5</b> Proceso de deshidratación y aclaración final.....	34

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla N°1</b> Resultados de LH mUI/ml ( pre- experimentación)...	35
<b>Tabla N°2</b> ADEVA LH mUI/ml ( pre experimentación).....	36
<b>Tabla N°3</b> Resultados LH mUI/ml (durante-experimentación).....	37
<b>Tabla N°4</b> ADEVA LH mUI/ml (media la experimentación).....	38
<b>Tabla N°5</b> Resultados LH mUI/ml (pos-experimentación) .....	39
<b>Tabla N°6</b> ADEVA resultado LH mUI/ml (pos-experimentación).....	39
<b>Tabla N°7</b> Resultados FSH mUI/ml (pre-experimento).....	40
<b>Tabla N°8</b> ADEVA FSH mUI/ml (pre-experimento).....	41
<b>Tabla N°9</b> Resultados FSH mUI/ml (mediante-experimento).....	41
<b>Tabla N°10</b> ADEVA FSH mUI/ml (mediante-experimento).....	42
<b>Tabla N°11</b> Resultados FSH mUI/ml (post-experimento).....	43
<b>Tabla N°12</b> ADEVA FSH mUI/ml (post-experimento).....	44
<b>Tabla N°13</b> Resultados Testosterona ng/ml (pre-experimento).....	45
<b>Tabla N°14</b> ADEVA Testosterona ng/ml (pre-experimento).....	46
<b>Tabla N°15</b> ADEVA Testosterona ng/ml (pre-experimento).....	47
<b>Tabla N°16</b> Anova Testosterona ng/ml (mediante experimentación).....	48
<b>Tabla N°17</b> Test:Duncan Alfa=0,05 para TESTOSTERONA ng/ml .....	48
<b>Tabla N°18</b> Resultados de testosterona (post-experimentación).....	51
<b>Tabla N°19</b> Adeva testosterona ng/ml (post-experimento).....	51
<b>Tabla N°20</b> Test:Duncan Alfa=0,05 para TESTOSTERONA ng/m .....	51
<b>Tabla N°21</b> Resultados de cortisol ng/ml (pre-experimental).....	52
<b>Tabla N°22</b> Andeva cortisol ng/ml (pre-experimental).....	53
<b>Tabla N°23</b> Resultados cortisol ng/ml c(mediante-experimento).....	54
<b>Tabla N°24</b> Adeva resultados cortisol ng/ml (mediante -experimento).....	55
<b>Tabla N°25</b> Resultados cortisol ng/ml (post-experimento).....	55
<b>Tabla N°26</b> Adeva resultado cortiso lng/ml ( post-experimento).....	57
<b>Tabla N°27</b> Mt. Contorno (cm) semanal.....	58
<b>Tabla N°28</b> ADEVA mt.contorno (cm) semana 1 .....	59
<b>Tabla N°29</b> Mt. Largo (cm) semana 1 .....	59

<b>Tabla N°30</b> ADEVA mt. Largo (cm) semana 1.....	60
<b>Tabla N°31</b> Mt. Contorno (cm) semana 2.....	61
<b>Tabla N°32</b> T de student mt. Contorno (cm) semana 2.....	62
<b>Tabla N°33</b> Mt. Largo (cm) semana 2.....	62
<b>Tabla N°34</b> T de student mt. Largo (cm) semana 2.....	63
<b>Tabla N°35</b> Mt. Contorno (cm) semana 3.....	64
<b>Tabla N°36</b> T student mt. Contorno (cm) semana 3.....	65
<b>Tabla N°37</b> Prueba T para medias de dos muestras emparejadas.....	65
<b>Tabla N°38</b> Mt largo (cm) semana 3.....	66
<b>Tabla N°39</b> T de student mt. Largo (cm) semana 3.....	67
<b>Tabla N°40</b> Mt. Contorno (cm) semana 4.....	67
<b>Tabla N°41</b> T de student mt. Contorno (cm) semana 4.....	68
<b>Tabla N°42</b> Prueba t para medias de dos muestras emparejadas.....	69
<b>Tabla N°43</b> Mt largo (cm) semana 4.....	69
<b>Tabla N°44</b> T de student mt. Largo (cm) semana 4.....	71
<b>Tabla N°45</b> Prueba t para medias de dos muestras emparejadas.....	71
<b>Tabla N°46</b> Mt. Contorno (cm) semana 5.....	72
<b>Tabla N°47</b> T de student mt. Contorno (cm) semana 5.....	73
<b>Tabla N°48</b> Prueba t para medias de dos muestras emparejadas.....	73
<b>Tabla N°49</b> Mt.largo (cm) semana 5.....	74
<b>Tabla N°50</b> T de student mt. Largo (cm) semana 5.....	75
<b>Tabla N°51</b> Prueba t para medias de dos muestras emparejadas.....	75
<b>Tabla N°52</b> Mt. Contorno (cm) semana 6.....	76
<b>Tabla N°53</b> T de student mt. Contorno (cm) semana 6.....	77
<b>Tabla N°54</b> Prueba t para medias de dos muestras emparejadas.....	77
<b>Tabla N°55</b> Mt. Largo (cm) semana 6.....	78
<b>Tabla N°56</b> T de student mt. Largo (cm) semana 6.....	79
<b>Tabla N°57</b> Prueba t para medias de dos muestras emparejadas.....	79
<b>Tabla N°58</b> Mt.contorno (cm) semana 7.....	80
<b>Tabla N°59</b> T de student mt.contorno (cm) semana 7.....	81

<b>Tabla N°60</b> Prueba t para medias de dos muestras emparejadas.....	81
<b>Tabla N°61</b> Mt.largo (cm) semana 7.....	82
<b>Tabla N°62</b> T de student mt.largo (cm) semana 7 .....	83
<b>Tabla N°63</b> Prueba t para medias de dos muestras emparejadas.....	83
<b>Tabla N°64</b> Peso total testicular gr.....	84
<b>Tabla N°65</b> ANDEVA peso total testicular gr.....	85
<b>Tabla N°66</b> Gastos de la orquiectomía a testículo abierto .....	89
<b>Tabla N°67</b> Gastos de inmuoesterilización .....	90



## *ÍNDICE DE GRÁFICOS*

<b>Gráfico N°1</b> Promedio de lh mui/ml ( pre experimentación).....	36
<b>Gráfico N°2</b> Promedio lh (mediante la experimentación).....	37
<b>Gráfico N°3</b> Promedio lh (pos-experimentación).....	39
<b>Gráfico N°4</b> Promedio fsh (pre-experimento).....	40
<b>Gráfico N°5</b> Promedio de fsh (mediante-experimento).....	42
<b>Gráfico N°6</b> Promedio de fsh (post-experimento).....	44
<b>Gráfico N°7</b> Promedio testosterona (pre-experimento).....	45
<b>Gráfico N°8</b> Promedio de fsh (mediante-experimento).....	47
<b>Gráfico N°9</b> Promedio testosterona (post-experimento).....	50
<b>Gráfico N°10</b> Promedio cortisol (pre-experimental).....	52
<b>Gráfico N°11</b> Promedio cortisol (mediante-experimento).....	54
<b>Gráfico N°12</b> Promedio 3°cortisol.....	56
<b>Gráfico N°13</b> Promedio mt.contorno semana 1.....	58
<b>Gráfico N°14</b> Promedio mt.largo semana1.....	60
<b>Gráfico N°15</b> Promedio mt. Contorno (cm) semana 2.....	61
<b>Gráfico N°16</b> Promedio mt. Largo semana 2.....	63
<b>Gráfico N°17</b> Promedio mt. Contorno semana 3.....	64
<b>Gráfico N°18</b> Promedio mt. Largo semana 3.....	66
<b>Gráfico N°19</b> Promedio mt. Contorno semana 4.....	68
<b>Gráfico N°20</b> Promedio mt. Largo semana 4.....	70
<b>Gráfico N°21</b> Promedio mt. Contorno semana 5.....	72
<b>Gráfico N°22</b> Promedio mt.largo semana 5.....	74
<b>Gráfico N°23</b> Promedio mt. Contorno semana 6.....	76
<b>Gráfico N°24</b> Promedio mt. Largo semana 6.....	78
<b>Gráfico N°25</b> Promedio mt.contorno semana 7.....	80
<b>Gráfico N°26</b> Promedio mt.contorno semana 7.....	82
<b>Gráfico N°27</b> Promedio peso total testicular gr.....	84

*ÍNDICE DE IMÁGENES*

**Imagen N°1.** Degeneración Testicular Atribuible a falta de secreción de testosterona  
.....87

**Imagen N°2.** Degeneración Testicular Atribuible a falta de secreción de testosterona  
.....88

## *ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS*

<b>Fotografía N°1.</b> División de los grupos de tratamientos.....	99
<b>Fotografía N°2.</b> Extracción de las muestras .....	99
<b>Fotografía N°3.</b> Muestras para los exámenes hormonales .....	100
<b>Fotografía N°4.</b> Aplicación de la vacuna GnRH .....	100
<b>Fotografía N°5.</b> Preparación para la cirugía .....	101
<b>Fotografía N°6.</b> Esterilización quirúrgica (Tratamiento 1) .....	101
<b>Fotografía N°7.</b> Morfología testicular .....	102
<b>Fotografía N°8.</b> Sutura de los ligamentos.....	102
<b>Fotografía N°9.</b> Toma de medidas del largo del testículo (T2) .....	103
<b>Fotografía N°10.</b> Toma de medida de la circunferencia (Inmunoesterilizado) ..	103
<b>Fotografía N°11.</b> Peso de los testículos (inmunoesterilizados).....	104
<b>Fotografía N°12.</b> Muestras del estudio hormonal (laboratorio LABSAG) .....	104
<b>Fotografía N°13.</b> Aplicación del reactivo en sangre (laboratorio LABSAG) .....	105
<b>Fotografía N°14.</b> Lectura de las muestras (laboratorio LABSAG) .....	105
<b>Fotografía N°15.</b> Peso de los testículos en gr, Laboratorio (Agro calidad).....	106
<b>Fotografía N°16.</b> Preparación de la muestra histológica en el laboratorio .....	106
<b>Fotografía N°17.</b> Equipo procesador de tejidos Laboratorio (Agro calidad).....	107
<b>Fotografía N°18.</b> Inicio de procesador para los tejidos en el laboratorio .....	107
<b>Fotografía N°19.</b> Inclusión de parafina (64°C) Laboratorio (Agro calidad) .....	108
<b>Fotografía N°20.</b> Bloques de parafina con el tejido Laboratorio (Agro calidad)....	108
<b>Fotografía N°21.</b> Microtomo regulado a 5 µm Laboratorio (Agro calidad).....	109
<b>Fotografía N°22.</b> Muestra histológica en baño María Laboratorio (Agro calidad)s	109
<b>Fotografía N°23.</b> Carrusel de tinción Laboratorio (Agro calidad).....	110
<b>Fotografía N°24.</b> Aplicación del Bálsamo de Canadá Laboratorio (Agro calidad)	110
<b>Fotografía N°25.</b> Placas de tejido testicular Laboratorio (Agro calidad) .....	111
<b>Fotografía N°26.</b> Observación de las placas en el microscopio Laboratorio (Agro calidad).....	111
<b>Fotografía N°27.</b> Pantalla con la placa de tubos seminíferos .....	112

<b>Fotografía N°28.</b> Placa histológica del testiculo (T1quirúrgicamente esterilizado)	112
<b>Fotografía N°29.</b> Placa histológica del Testigo ( Lente10x) .....	113
<b>Fotografía N°30.</b> Placa histológica del Testigo( Lente40x) .....	113
<b>Fotografía N°31.</b> Placa histológica inmunoesterilizados ( Lente10x) .....	114
<b>Fotografía N°32.</b> Placa histológica inmunoesterilizado 102 (Lente40X).....	114
<b>Fotografía N°33.</b> Exámenes hormonales pre experimental del T2 .....	115
<b>Fotografía N°34.</b> Exámenes hormonales mediante la experimentación del T2 .....	116
<b>Fotografía N°35.</b> Examen hormonal mediante la experimentación del T2 .....	117
<b>Fotografía N°36.</b> Exámenes hormonales pos experimentación del T2.....	118
<b>Fotografía N°37.</b> Examen hormonal pos experimentación del T2.....	119

## RESUMEN

El estudio del presente experimento fue comprobar los efectos de la inmunosterilización mediante la aplicación de una vacuna anti-GnRH para suprimir la capacidad reproductiva de los animales domésticos. Determinando las concentraciones hormonales, análisis de la morfología testicular e histológica, respecto el costo/beneficio entre los animales inmunosterilizados con relación a los quirúrgicamente castrados. Se usó como modelo experimental animal a los ovinos en número de 12 machos, de 3-4 meses de edad, que fueron ubicados en tres grupos. En los tres tratamientos se obtuvo muestras sanguíneas antes de cada aplicación de GnRH para análisis hormonal de LH, FSH, testosterona y cortisol, además de la medición de la morfología testicular e histología. El tratamiento de los Inmunosterilizados consistió en aplicar 3 dosis de la vacuna anti-GnRH (INNOSURE®) de 2ml a cada animal, por vía subcutánea, se analizó LH, FSH, Testosterona y Cortisol antes, durante y después de la aplicación de la vacuna, al igual que en los castrados quirúrgicamente y el grupo control. Con relación al análisis de los tejidos histopatológicos, presentaron una reducción de tamaño de los túbulos seminíferos en los animales Inmunosterilizados respecto a los castrado quirúrgicamente y grupo control, se evidenció hipoplasia testicular caracterizado por atrofia del epitelio germinal, determinados por la disminución de las concentraciones de hormonas FSH, LH y testosterona; además de endurecimiento testicular, así como la pérdida de elasticidad escrotal. Se concluye que respecto a la aplicación de la vacuna GnRH, podría existir supresión de la capacidad reproductiva en los ovinos, determinando una alternativa a la castración quirúrgica tradicional. Se recomienda aplicar la vacuna anti GnRH en ovinos a una dosis de dos ml subcutánea, con la posibilidad de aplicación en otras especies domésticas.

## ABSTRACT

The study of this experiment was to testing the effects of immunosterilisation by applying an anti-GnRH vaccine for suppressing reproductive capacity of the domestic animals. It was used as experimental animal model, the number of sheep in 12 males, 3-4 months old, were placed in three groups. In the three treatments blood samples were obtained before each application for hormonal analysis GnRH, LH, FSH, testosterone and cortisol, measuring testicular morphology and histology. The treatment consisted of applying the Inmunoesterilizados 3 doses of anti-GnRH (INNOSURE®) 2ml vaccine to each animal subcutaneously, LH, FSH, testosterone and cortisol was analyzed before, during and after application of the vaccine. As in the surgically castrated and control groups. Regarding the analysis of histopathological tissue, they showed a reduction in size of the seminiferous tubules in the Inmunoesterilizados animals in relation to the surgically castrated and control group, testicular hypoplasia characterized by atrophy of the germinal epithelium was evident, determined by the decrease Concentrations of hormones FSH, LH and testosterone; testicular addition hardening and loss of elasticity scrotal. It is conclude that with respect to the application of GnRH vaccine could exist suppression of reproductive capacity in sheep, determining an alternative to traditional surgical castration.

## INTRODUCCIÓN

En el presente tema de estudio se valoró la posible utilización de la inmuoesterilización en el ovino, como modelo experimental para evaluar el efecto de esta vacuna, y valorar las concentraciones sobre las hormonas que interviene en la madurez sexual como la LH, FSH y Testosterona. Se analizó la morfometría testicular y los efectos que han causado sobre el tejido testicular.

La castración quirúrgica la cual es irreversible con respecto a la actividad reproductiva, es una técnica que presenta diversos problemas como, la sujeción, la aplicación del respectivo anestésico, la falta de asepsia en el medio o la habilidad del profesional que no conlleva a prevenir la hemorragia, todo este proceso provoca estrés, en el animal, ocasionando que su sistema inmunológico se vea afectado, generando en cierto modo la pérdida de apetito causando pérdidas en la producción y por ende pérdidas para los productores.

La inmunocastración es una nueva alternativa que no atenta el bienestar animal, siendo una posibilidad aplicable, ya que es un método menos doloroso- estresante, éticamente viable, y de fácil implementación, incluso en diferentes especies animales. Esta técnica no elimina la fuente testicular, por lo tanto los factores de crecimiento natural podrían no ser eliminados, y así la conversión alimenticia en el animal no llegar a alterarse, obteniendo incluso una carne de mejor calidad. Sin embargo, es importante considerar que la agresividad respecto a su comportamiento natural determinará mayor grado de docilidad para su manejo, esto significa que los animales que reciben esta vacuna pueden reducir potencialmente los costos de producción, mejorando la rentabilidad.

La castración inmunológica, consiste en la estimulación del sistema inmunitario del animal, para que produzca anticuerpos específicos contra la GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas). Estos anticuerpos inhiben la actividad normal de la

hormona GnRH, reducen las concentraciones plasmáticas de LH y FSH, e inhiben el desarrollo testicular y su funcionamiento.

## **OBJETIVO**

### ***Objetivo general:***

- Comprobar los efectos de la inmuoesterilización mediante la aplicación de una vacuna anti-GnRH para suprimir la capacidad reproductiva de los animales domésticos.

### ***Objetivos específicos:***

- Evaluar las concentraciones hormonales (cortisol, testosterona, FSH y LH en los animales castrados con relación a los animales inmunizados.
- Comprobar si se producen cambios morfológicos a nivel histológico en las estructuras y tejidos de los testículos de los animales inmuoesterilizados versus los castrados quirúrgicamente.
- Comparar la morfometría testicular de los animales castrados quirúrgicamente versus los inmuoesterilizados y determinar si existe variación en cuanto a su tamaño.



# CAPÍTULO I

## 1. Marco teórico

### *1.1 Anatomía y fisiología del aparato reproductor del macho ovino*

Los órganos genitales masculinos están ubicados en el canal pélvico, la cual están compuestos por una serie de segmentos ubicados uno detrás de otro que tiene a su cargo varias funciones. (FLORES, 2001)

#### *1.1.1. Testículos*

Son órganos primarios de la reproducción en número de dos, en los rumiantes se sitúan en la región inguinal y púbica alojados en posición vertical en el escroto. Son de forma ovoidea con un tamaño variable que corresponde aproximadamente al 1 % del peso vivo de los animales y su tamaño se incrementa después que los animales llegan a la pubertad y al inicio de cada estación de empadre y en el ovino, los testículos presentan un diámetro testicular superior a los 30 cm y un peso superior a los 550 gramos, son de tamaño similar pero nunca iguales. (DICKSON, y otros, 2005)

Los testículos están cubiertos en la parte externa por el escroto que se encuentran cubierto por finos pelos, el escroto está formado por piel y procesos vaginales. La piel externa consta de la túnica de dartos, fascia espermática externa formado por una

capa de tejido conectivo laxo, y el musculo cremaster que se ubica dorso caudal al testículo, y se extiende hasta la cola del epidídimo, sobre su trayecto dicho musculo se inserta sobre la fascia espermática interna misma que conforma el proceso vaginal, esta fascia es más gruesa que la externa la cual se une a la lámina parietal o túnica vaginal parietal. (PÉREZ, 2012)

El escroto participa en la termorregulación necesaria para la espermatogénesis, ya que este proceso debe llevarse a cabo por debajo de la temperatura corporal. La túnica de dartos adherida a la piel y contiene tejido muscular el cual se contrae o relaja dependiendo de la temperatura ambiental mantiene la temperatura testicular por debajo de la corporal. Incluye también al musculo cremaster que conecta a la túnica vaginal con el abdomen, regulando la proximidad del testículo al abdomen. (URROZ, 2001)

El mecanismo termorregulador cuenta además con el plexo pampiniforme, el cual está constituido por la arteria espermática que envuelve de manera tortuosa a la vena espermática con la finalidad de enfriar la sangre que lleva al testículo. (CARAVACA, y otros, 2003)

### ***1.1.2 Estructura de los testículos.***

La estructura está conformada por, la túnica albugínea, septos de los testículos y mediastino del testículo. Rodeados por una firme cápsula de tejido conectivo, la túnica albugínea, que tiene 1- 2 mm de espesor está compuesta por fibras de colágeno que contiene tejido conectivo. En esta túnica discurre en forma específica según el tipo de animal los grandes vasos sanguíneos del testículo. Por afuera del testículo se encuentra la hoja visceral. La túnica albugínea mantiene bajo presión el parénquima testicular. (KONIG, y otros, 2005)

Desde la cápsula irradian hacia el interior del testículo pequeños tabiques de tejido conectivo, los septos del testículo, que dividen el parénquima testicular en lobulillos de forma piramidal. Estos tabiques de tejido conectivo se unen entre sí en el eje testicular, o algo desplazados en dirección al epidídimo, para formar el mediastino del testículo. (KONIG, y otros, 2005)

### ***1.1.3. Parénquima testicular***

#### ***1.1.3.1. Tubos seminíferos contorneados***

Los tubos seminíferos contorneados discurren en asas fuertemente enrolladas cuyas terminaciones en línea recta, los túbulos seminíferos rectos, se introducen en la red del testículo. (ÁLVAREZ, 2003)

En los carneros, se encuentra más de una capa de células en la lámina basal. Las más cercanas al epitelio seminífero son células mioides pero no forman una capa continua y en una sección más periférica se encuentran células similares a fibroblastos, la cual conforme se produce envejecimiento, ocurre un proceso de fibrosis que aumenta el espesor de esta lámina basal. (HUANCA, 2014)

#### ***1.1.3.2 Los túbulos seminíferos rectos***

Presentan formas onduladas y tienen dos puntos terminales, cada una de las terminaciones van a desembocar en la red de testis, el cual es una complicada red de canales intercomunicados y está formada por diferentes células en forma de columnas, cuboides y escamosas, con presencia de linfocitos y macrófagos. (Reproducción animal, 2014)

### ***1.1.3.3 La red del testículo***

Se encuentra en el mediastino del testículo. En el intersticio, entre los túbulos seminíferos, se encuentran las células intermedias de Leydig, las productoras de la hormona sexual o andrógenos (testosterona) y un apreciable número de células mastocitas y macrófagos. (KONIG, y otros, 2005)

De la red testicular salen de 8y 12 conductos excretores, densamente enrollados, que perforan la túnica albugínea e ingresan en la cabeza del (KONIG, y otros, 2005)

### ***1.1.4. Funciones de los testículos.***

Tiene al menos dos funciones:

Una función exocrina: producción de espermatozoides o células germinales masculinas en las partes basales del túbulo seminífero. (DICKSON, y otros, 2005)

Una función endocrina: producción de hormonas como la testosterona que influyen en el desarrollo y conducta del macho, conformación masculina, así como, también la conducta sexual. (DICKSON, y otros, 2005)

Bajo la influencia de esta ultima se desarrolla los caracteres sexuales secundarios y se activa la espermatogénesis. Esta hormona estimula la sintesis de las sustancias glucosa, fructuosa, citrato indispensable para la motilidad de los espermatozoides. Los espermatozoides se forman en los tubos fuertemente contorneados y desembocan en la red de testis . intercalados entre ellos se encuentran las células de intersticiales de Leydig, productoras de testosterona bajo la influencia de las células intersticiales. (RODRÍGUEZ, 2013)

Los tubulos seminiferos tiene una membrana basal la cual se encuentra en contacto con los capilares sanguineos encargados de aportar sustancias nutritivas, las células que se encuentran en la capa basal se denominan espermatogonias estas se dividen y

originan los espermatoцитos de primer orden, transformándose en espermatoцитos de segundo orden, estos últimos evolucionarán posterior a espermátidas y después a espermatozoides . (RODRÍGUEZ, 2013).

Las células de Sertoli, son de gran tamaño y están en la capa interna de la membrana basal, desde donde se extiende hacia la luz del túbulo. Su citoplasma forma prolongaciones que rodean las células germinales. Entre las células de sertoli forman la barrera hematotesticular. Esta barrera permite dividir el epitelio germinal en un compartimento basal y otro abdominal, aislando a las células germinales y evitando que se difundan auto antígeno, desde el interior del túbulo a los vasos sanguíneos. En el tejido intersticial se encuentran las células de Leydig, fibroblastos, macrófagos, vasos sanguíneos y vasos linfáticos. (HUANCA, 2014)

El tamaño del tejido intersticial varía entre especies y en el carnero representa un 15 % del parénquima testicular y las células de Leydig representan más o menos el 8 % del parénquima y alrededor del 30 x 10<sup>6</sup> células de Leydig / gr. de tejido. (HUANCA, 2014)

#### ***1.1.5. El epidídimo.***

Se encuentra en la superficie del testículo, sostiene a la túnica albugínea por tejido conjuntivo. El epidídimo es un conducto simple largo y compacto tubo arrollado presenta grandes ondulaciones, extendiéndose desde la parte anterior a posterior del testículo que lo fija al mismo. Presenta un diámetro de 70 a 500 mm, con un peso de 20 a 30 gr en el carnero y el largo va de 50 a 60 mm. en el ovino. (HAFEZ, y otros, 2002)

Convencionalmente está dividido en tres regiones: La cabeza del epidídimo está ubicada en el polo proximal del testículo y formada por 13 a 15 conductos eferentes. El cuerpo del epidídimo corre por el borde medial y posterior del testículo mientras

que la cola del mismo situada en el polo distal del testículo y almacena una importante cantidad de espermatozoides. (CARAVACA, y otros, 2003)

Los conductos eferentes y el canal epididimario están completamente rodeados por fibras musculares lisas circulares que se engruesan a nivel de la cola y comprenden también fibras longitudinales del mismo tipo. El epitelio de revestimiento es un epitelio simple cilíndrico constituido por dos tipos celulares: células principales y células basales, y rodeado por un tejido conectivo laxo y una capa circular de fibras musculares lisas, que aumenta hacia la cola. Las células principales son cilíndricas y se hacen cúbicas hacia la cola.(ESPINOSA, 2011)

#### ***1.1.5.1. Las funciones epidídimo.***

Cuenta entre ellas el transporte, la sobrevivencia y la maduración funcional de los espermatozoides. Los cambios en la maduración incluyen:

- Adquisición de la capacidad de motilidad progresiva.
- Condensación final del núcleo y modificaciones en la forma del acrosoma.
- Formación de puentes de disulfuro en las estructuras proteicas.
- Alteraciones en la naturaleza de la membrana plasmática.
- Disminución en la concentración de O<sub>2</sub> para inhibir el metabolismo de los espermatozoides
- Reabsorción, fagocitosis y licuefacción de espermatozoides deficientes.
- Almacenamiento de espermatozoides. Los espermatozoides son producidos en formas regulares y expulsados continuamente de los túbulos seminíferos, pero son inmóviles en el líquido testicular. Los cilios del epitelio de los canales eferentes contribuyen a su progresión hacia la cabeza. En el epidídimo las contracciones rítmicas aseguran su desplazamiento. La duración del tránsito por el epidídimo varía según las distintas especies animales. (CUNNINGHAM, 2006)

La cola, en cambio, actúa como reservorio en la cual los espermatozoides pueden sobrevivir durante tres semanas. (CUNNINGHAM, 2006)

#### ***1.1.6. Conductor deferente***

Se origina en la cola del epidídimo, se termina en la uretra, en su porción prostática, es un conducto estrecho, regularmente cilíndrico, excepto en los últimos diez centímetros donde se aumentan las glándulas ampulares.(GHEZZI, y otros, 2004)

Consta de 3 partes distintas que vienen marcadas por su recorrido desde el testículo hasta el aparato copulador: 1.Porción testicular. Desde cola del epidídimo hasta integración con cordón testicular. 2. Porción que recorre el cordón testicular y atraviesa el anillo inguinal. 3. Porción intra abdominal y que va a llegar al aparato copulador. El cordón espermático (en cuya estructura se incluye el conducto deferente) presenta una estructura de fibras musculares lisas circulares y longitudinales que permiten el movimiento en el interior del tubo para la ascensión espermática. Tiene también un recubrimiento interno de mucosas y válvulas que impiden el retroceso, su función única es la del transporte de los espermatozoides. (CUÉLLAS, 2001)

Presenta una estructura de fibras musculares lisas circulares y longitudinales que permiten el movimiento en el interior del tubo para la ascensión espermática. Tiene también un recubrimiento interno de mucosas y válvulas que impiden el retroceso. La mucosa presenta pliegues longitudinales. El epitelio varía de simple cilíndrico a pseudoestratificado, con células que presentan estereocilios. La lámina propia submucosa está compuesta por tejido conectivo fibroelástico y carece de glándulas. (ARMAS, 2014)

### ***1.1.7. Uretra***

La uretra comienza en el orificio uretral, en el extremo caudal del cuello de la vejiga, llega hasta el orificio uretral extremo en la punta del pene. la parte preprostática sirve como vía urinaria, la parte prostática se extiende en dirección caudal desde el folículo seminal hasta el arco isquiático, cumple funciones de vía urinaria y seminal, la parte preprostática y prostática de la uretra se denomina parte pélvica. (ÁLVAREZ, 2003)

### ***1.1.8. Glándulas anexas***

#### ***1.1.8.1. Vesículas seminales.***

Las Vesículas Seminales consisten en un par de glándulas genitales ubicadas en el piso de la pelvis a ambos lados del cuello de la vejiga. Se denominan de tal manera porque anteriormente se creía que eran reservorios de semen. Estas glándulas segregan un líquido claro que tiene como función acrecentar el volumen del eyaculado, aportar nutrientes y servir como buffer al semen. Alrededor del 50% del volumen total del semen es aportado por estas estructuras. Son lobuladas y miden de 10 a 15 cm de largo y 2 a 4 cm de diámetro. (HAFEZ, y otros, 2002)

El epitelio glandular es pseudoestratificado con células cilíndricas altas de citoplasma claro y vesiculoso, y otras células basales, pequeñas y esféricas. (ESPINOSA, 2011)

#### ***1.1.8.2. Próstata.***

Con respecto a la Próstata, esta se encuentra hacia caudal de las anteriores y sus secreciones se vierten junto al semen en el momento de la eyaculación por medio de numerosos conductos que se abren hacia la uretra pelviana, en lateral del colículo seminal. Es la única glándula accesoria del macho constante en todas las especies de



animales domésticos, y su cuerpo mide 2,5 cm de ancho por 1 a 1,5 cm de grosor, lo que la hace palpable por el recto. La porción diseminada rodea a la uretra pelviana y está cubierta por el músculo uretral. (PÉREZ, 2012)

Presenta una cápsula de tejido conectivo denso e irregular que contiene muchas fibras musculares lisas. Las porciones glandulares están rodeadas por un epitelio simple cilíndrico con dos tipos celulares. (BERNABE, y otros, 2013)

### ***1.1.8.3. Glándulas De Cowper.***

Las Glándulas de Cowper son dos y se encuentran ubicadas a ambos lados de la uretra pelviana, cerca del arco isquiático. Son ovoideas y difíciles de palpar en el bovino, merced de su pequeño tamaño. Contribuyen muy poco al volumen del líquido seminal, las secreciones de estas glándulas eliminan residuos de orina a la uretra antes de la eyaculación. Estas secreciones se notan antes del eyaculado. (ESPINOSA, 2011)

El epitelio glandular es simple cilíndrico con células de citoplasma claro que secretan moco. Diferencias entre especies: en rumiantes y caballo la glándula está rodeada por el músculo bulbo cavernoso. (URROZ, 2001)

## ***1.2. ENDOCRINOLOGÍA DEL APARATO REPRODUCTOR***

### ***1.2.1 Eje hipotálamo-hipófisis-gónadas***

La liberación de hormonas en el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas es regulada por mecanismos de retroalimentación negativa y positiva sobre el hipotálamo y la adenohipófisis. En este sentido, la GnRH estimula a los gonadotropos de la adenohipófisis para liberar LH o FSH. A su vez, la LH estimula a las gónadas para secretar esteroides gonadales, como testosterona o estrógenos, mientras que la FSH estimula a las gónadas para liberar inhibina. Tanto los estrógenos como la

testosterona ejercen retroalimentación negativa sobre los gonadotropos e inhiben la liberación de gonadotropinas.(PTASZYNSKA, 2007)

### ***1.2.2. Gonadotropinas pituitaria***

Las hormonas responsables del desarrollo y el mantenimiento del fenotipo masculino también son gonadotropinas LH; FSH(que encuentran en la hipófisis): Gonadotropina luteinizante (LH), en el macho recibía el nombre de hormona estimulante de las células intersticiales o (ICSH) tiene un peso molecular 40.000 en la oveja, no produce efectos independientes, su función en el macho es de estimular la diferenciación de las intersticiales de los testículos en células de Leydig, y estimula síntesis de testosterona o de estrógenos. (ALDANA, y otros, 2011)

La hormona foliculoestimulante (FSH), producida por la hipófisis, tiene un peso molecular de 67.000 en la oveja, actúa indirectamente estimulando la gametogénesis, aumentan en las células granulosas los receptores que fijan LH, mantiene la integridad anatómica de los túbulos seminíferos, estimulando la maduración de las células germinales. (PALMA, 2001)

### ***1.2.3. Gónadas masculinas y corteza suprarrenal***

Gónadas masculinas, testosterona, hormona del testículo, estimula el desarrollo los órganos sexuales masculinos y los caracteres sexuales secundarios, favorece la espermatogénesis y la conducta masculina. (HERNANDEZ, 2001)

Cortisol, cortisona, corticosterona. Hormona esteroide que desempeña múltiples funciones metabólicas para regular el metabolismo de proteínas, carbohidratos y lípidos (HERNANDEZ, 2001)

### **1.3. CASTRACIÓN QUIRÚRGICA (ORQUIECTOMÍA)**

La castración del ganado es una práctica que se ha venido haciendo desde hace cientos de años y es la operación quirúrgica más antigua que se conoce, se designan a los corderos machos que no serán asignados a reproductores, se aplica en rebaños que están en mejoramiento genético. (CORONEL, 2007)

La cirugía consiste en la extracción completa de los testículos y conductos espermáticos aplicando anestesia y analgesia de larga duración. Puede realizarse a cualquier edad, tiene un 100% de efectividad, reduce los comportamientos sexual y agresivo, y aumenta la calidad de canal y carne. Sin embargo, puede complicarse con hemorragias, edemas que provocan dolor crónico en el animal, o infecciones posteriores. (CORONEL, 2007)

#### **1.3.1. Castración pre escrotal abierta**

Coloque al paciente decúbito dorsal. Verifique la presencia de los dos testículos en el escroto. Rasure y prepare asépticamente el abdomen caudal la cara media de los muslos, Evite irritar el escroto con cuchillas, rasuradoras o con el antiséptico, aplique presión sobre el escroto para avanzar uno de los testículos por el área escrotal, lo más lejos posible. Incida la piel y el tejido subcutáneo a lo largo del rafe medio y sobre el testículo desplazado, continua la incisión a través de la fascia espermática para exteriorizar el testículo, incida la túnica parietal vaginal parietal sobre el testículo, no incida la túnica albugínea, quedaría expuesto el parénquima testicular coloque una pinza hemostática a través de la túnica vaginal, en su unión con el epidídimo. Separe digitalmente el ligamento de la cola del epidídimo de la túnica, aplicando tracción con el hemostato sobre la túnica. Siga exteriorizando el testículo aplicando tracción caudal y hacia afuera. (WELCH, 2009)

Identifique las estructuras del cordón espermático, ligue individual el cordón vascular

y el conducto deferente, después realice una ligadura circular alrededor de los dos, muchos cirujanos ligan el conducto eferente y el plexo pampiniforme juntos use sutura reabsorbible 2-0. Coloque un hemostato a través del cordón e incida, observando que no haya sangrado suelte, limpie le zona, aplique cicatrizante, el respectivo antibiótico e inflamatorio. (VELA, 2012)

#### ***1.4. INMUNOCASTRACIÓN O CASTRACIÓN INMUNOLÓGICA***

La castración inmunológica consiste en la estimulación del sistema inmunitario del animal para que produzca anticuerpos específicos contra, la GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas). Estos anticuerpos inhiben la actividad normal de la hormona GnRH, reducen las concentraciones plasmáticas de LH y FSH, e inhiben el desarrollo testicular y su funcionamiento. (PFIZER, 2010)

##### ***1.4.1. Composición de la vacuna***

Es un péptido sintético análogo del GnRH producido de manera natural, conjugada (unido covalentemente) a una proteína portadora (usada extensamente en vacunas pediátricas humanas). Este proceso de conjugación covalente da como resultado un antígeno altamente inmunológico sin actividad hormonal. El antígeno se combina además con adyuvante acuoso (no aceite) para mejorar aún más la respuesta inmune. El GnRH natural y el análogo modificado son demasiado pequeños para ser inmunogénica, necesita estar unido covalentemente a una proteína portadora para aumentar su tamaño e inmunogenesidad, la modificación y unión a la proteína elimina toda la actividad hormonal. (PFIZER, 2010)

#### ***1.4.2. Modo de acción***

Es una vacuna que estimula el sistema inmunitario del cerdo para producir anticuerpos específicos frente al GnRF. Esto inhibe temporalmente la función testicular y por tanto detiene la producción y acumulación de los componentes responsables del olor sexual. Al estimular la producción de anticuerpos específicos frente al GnRF bloqueando la síntesis de LH y FSH, por ende el crecimiento testicular se interrumpe, inhibe temporal la función testicular y los rasgos asociados con la madurez sexual, incluyendo la fertilidad, libido y agresión que ocurre conforme el cerdo se acerca a la pubertad . Una segunda dosis produce altos niveles de anticuerpos de GnRH, la concentración de anticuerpos alcanzan su nivel máximo aproximadamente de 7 a 10 días después de la segunda dosis quedando castrado inmunológicamente. (PFIZER, 2010)

#### ***1.4.3. Dosis y Administración***

Deben vacunarse los cerdos machos enteros desde 8 semanas de edad en adelante con dos dosis de 2 ml y con, al menos, 4 semanas de intervalo, administrando la segunda dosis 4-6 semanas antes del sacrificio. (PFIZER, 2010)

#### ***1.4.4. Contraindicaciones***

No está recomendado para uso en reproductores. Si se administra inadvertidamente más de una dosis, puede afectar a la fertilidad de los machos reproductores. (PFIZER, 2010).

## **1.5. Técnica histológica**

Se denomina proceso histológico a una serie de métodos y técnicas adquiridos para poder estudiar las características morfológicas y moleculares de los tejidos. (ESPINOZA, 2015)

### **1.5.1. Método de fijación natural.**

#### **1.5.1.1. La congelación rápida.**

Es un buen método de preservación de las características moleculares y es conveniente que sea rápida puesto que así se impide la formación de grandes cristales de hielo que nos destruirían la estructura del tejido. (BACHA, y otros, 2001)

#### **1.5.1.2. La criodesecación.**

Parte de tejido previamente congelado al que posteriormente se le sublima el hielo, es decir, el agua pasa de estado sólido a gaseoso sin pasar por estado líquido. Al eliminar el agua se impide que se den reacciones químicas, por lo que, además de la fijación, este método preserva el tejido en el tiempo.

La crio sustitución: También parte de tejido congelado pero en este caso se produce una sustitución lenta del hielo por una solución fijadora. (BACHA, y otros, 2001)

### **1.5.2. Método de fijación químicos.**

#### **1.5.2.1. Inmersión.**

En el método las piezas de tejido se sumergen en la solución fijadora.

Las piezas de tejido no deberían superar los 0.5 cm de espesor para que el fijador alcance el interior de la pieza antes de que ésta comience a deteriorarse. Esto depende de la velocidad de penetración del fijador y de las características del tejido. El volumen recomendado de fijador es 20 veces superior al volumen de la pieza. La osmolaridad del tejido y de la solución fijadora debe estar equilibrada. El tiempo de fijación depende de cada tipo del fijador. Una agitación suave durante la fijación ayuda a la penetración del fijador y disminuye el tiempo. (ESPINOZA, 2015)

#### ***1.5.2.2 Perfusión.***

Por este procedimiento la solución fijadora se introduce a través del sistema circulatorio por el cual accede a todas las células del tejido gracias a la red de capilares. También podemos fijar un único órgano en el caso de que podamos introducir la solución fijadora en la arteria principal que irriga dicho órgano. Esta solución fijadora llega rápidamente a escasa distancia de todas las células de la estructura. (WIKILIBROS, 2015).

#### ***1.5.3. Fijadores que se usan para los tejidos***

##### ***1.5.3.1 Alcohol etílico.***

Fija por deshidratación y se usa entre el 70 y 90 %. Es un buen fijador para preservar proteínas, como enzimas, glucógeno, pigmentos y es útil para fijar las extensiones citológicas. Debido a que deshidrata, a la vez que fija, se puede usar también como un conservante de las muestras. Tiene algunos inconvenientes como producir endurecimiento y la retracción de los tejidos. Carece de efecto mordiente. (LACAVE, y otros, 2005)

### **1.5.3.2 Formaldehído.**

Actúa mediante la formación de puentes entre las moléculas tisulares. Se utiliza a concentraciones próximas al 4 %. Es un fijador ampliamente usado por la buena preservación del tejido, actúa como conservante, produce poca retracción tisular, es un buen fijador para lípidos, es compatible con la mayoría de las tinciones histológicas, incluidas las de inmunocitoquímica e hibridación de ácidos ribonucleicos. Normalmente se usa en solución tamponada e isotónica. Actualmente se prepara a partir de paraformaldehído, sustancia sólida. Ejemplos: BOUIN, FFA, PLP. (LACAVE, y otros, 2005)

### **1.5.4. Inclusión en parafina**

Es una sustancia de aspecto ceroso que está formada por mezclas de hidrocarburos saturados. A temperatura ambiente es sólida y su punto de fusión puede variar entre 40 °C y 70 °C según la composición de la mezcla de hidrocarburos. Así, parafinas más duras a temperatura ambiente tienen un punto de fusión mayor, mientras que las más blandas uno menor. Las parafinas más usadas tienen un punto de fusión a los 60 °C. Podemos también modificar las características de las parafinas añadiendo sustancias para variar su dureza, viscosidad, fragilidad, etcétera. (BACHA, y otros, 2001)

Además, la mayoría de los fijadores son soluciones acuosas. Esto implica que para que la parafina líquida pueda penetrar completamente en el tejido ha de sustituirse el agua por un solvente orgánico. Esto se consigue mediante la deshidratación del tejido en alcoholes, normalmente etanol, de gradación creciente hasta alcohol de 100°. Posteriormente se transfiere el tejido a un líquido que es miscible tanto con el alcohol de 100° como con la parafina, denominado sustancia intermediaria, como es el benceno, xileno, tolueno o el óxido de propileno, entre otros. Estas sustancias son normalmente aclarantes por lo que comprobando la translucidez de la pieza podemos



cerciorarnos de la penetración de la sustancia intermediaria en el tejido. El tolueno o xileno no debe ser excesivo puesto que estas sustancias endurecen la pieza y crean problemas al hacer las secciones. (LACAVE, y otros, 2005)

Por último se pasa el tejido a la parafina en una estufa regulada a la temperatura apropiada. Se dan tres pasos por parafina líquida para favorecer una completa sustitución del líquido intermediario por la parafina. El tiempo que dura dichos pasos depende de lo volátil que sea el líquido intermediario y lo grande que sea nuestra pieza. Hay que tener en cuenta que un tiempo excesivo en parafina puede endurecer el tejido. Tras el completo de la muestra se vierte parafina líquida en un molde, se introduce la muestra y se coloca según la orientación deseada de corte y se deja solidificar a temperatura ambiente. (REDONDO, 2007)

#### ***1.5.5. Corte del bloque histológico***

Utilizamos para el corte los micrótomos y existen diferentes tipos según el grosor que queramos conseguir en nuestras secciones, según el medio de inclusión en el que se encuentre el tejido o según el proceso de endurecimiento de la muestra: por congelación o por inclusión. (ESPINOZA, 2015)

##### ***1.5.5.1 Micrótomos para parafina.***

Se utiliza principalmente para material incluido en parafina y se obtienen secciones de 5 a 20  $\mu\text{m}$  de grosor. Estas secciones se observan con el microscopio óptico. (GEOFFREY, 2011)

#### ***1.5.5.2 Micrótopo de congelación.***

Con él se consiguen secciones de 30 a unas 100  $\mu\text{m}$  de grosor a partir de material congelado y se observación con el microscopio óptico. (COSMOS, 2012)

#### ***1.5.6. Tinción***

Los colorantes son normalmente hidrosolubles y se caracterizan por unirse a ciertas moléculas presentes en los tejidos gracias a afinidades electro-químicas. Se utilizan normalmente para teñir a las células y componentes tisulares que van a ser observados con el microscopio óptico. . (ESPINOZA, 2015)

##### ***1.5.6.1 Tinción general.***

Una de las tinciones más comúnmente usada en histología es la hematoxilina-eosina sobre cortes de parafina. Se usa un colorante básico y otro ácido para teñir de diferente color a las estructuras ácidas y básicas de la célula. Antes de proceder a la tinción, si partimos de cortes de parafina, tenemos que llevar a cabo unos tratamientos previos sobre las secciones como es el desparafinado, y la hidratación puesto que estos colorantes son hidrosolubles. (PANIAGUA, 2007)

## CAPÍTULO II

### 1. Materiales y métodos

#### *2.1 Características del área experimental*

El presente experimento se llevó a cabo en el barrio Centro de la Parroquia San Buenaventura ubicado al norte del aeropuerto, a 1.2 kilómetros del centro del cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi.

##### *2.1.1. Ubicación política*

**La presente investigación se realizó en:**

- Provincia: Cotopaxi
- Cantón: Latacunga
- Parroquia: San Buenaventura
- Barrio: Centro
- Latitud:  $-0.9666667^{\circ}$
- Longitud:  $-78.6666667^{\circ}$
- Altitud: 2757 m.s.n.m.
- Temperatura: 11 - 12°C

- Pluviosidad: 550 mm. Anuales  
Fuente:(GLOOGLEMAP, 2014)

## **2.2. Recursos materiales**

### **2.2.1. Materiales de oficina**

- Computadora
- Calculadora
- Esferos
- Hojas

### **2.2.2. Materiales de Campo**

- Jeringuillas
- Guantes
- Tubos sin anticoagulante
- Termo de transporte
- Cinta zoometría
- Cinta métrica o alcalímetro
- Equipo básico de cirugía
- Overol o mandil
- Recipientes estériles
- Alcohol
- Algodón
- Anestésicos
- Analgésicos
- Cicatrizante

### **2.2.3. *Biológicos***

- Vacuna anti-GnRH (Innosure)

### **2.2.4. *Equipo y materiales de laboratorio***

- Báscula en gramos
- Procesador de tejido código (DA-EA-095-00, marca SLEE, modelo MTM, serie SA21101463).
- Centro de inclusión de parafina (código DA- EA-042-00, marca SLEL, modelo MPS-C, serie 12120001).
- Micrótopo (código DA-EA-082-00, marca SLEE, modelo WT6062,SERIE C120014).
- Baño maría circular (código DA-EA-021-00, marda FISHER, modelo 26103FS, SERIE 164107200021).
- Carrusel de tinción (código DA-EA-032-00, marca SLEL, modelo MSM, serie 120001).
- Cámara al vacío
- Mascarilla
- Pinza
- Bisturí
- Recipientes
- Casett
- Moldes para el casett
- Cubre y porta objetos

### **2.2.5. *Reactivos***

- Alcohol 100

- Alcohol 96
- Alcohol 70
- Xilol
- Parafina
- Agua destilada
- Hematoxilina

### ***2.3. Tipos de investigación.***

#### ***2.3.1 Investigación Descriptiva***

Detalla las características más importantes del problema en estudio, en lo que respecta a su origen y desarrollo. Su objetivo es describir un problema en una circunstancia temporo-espacial determinada, es decir, detallar cómo es y cómo se manifiesta. (FLORES, 2001) Se relacionó los objetos de estudio desglosándolos en diferentes etapas con distintos parámetros hormonales, estudios histológicos y morfometría testicular.

#### ***2.3.2. Investigación Explorativa***

En este tipo de estudio relaciona sobre un tema u objeto que es desconocido o a su vez poco estudiado, por lo que sus resultados constituyen una visión aproximada de dicho objeto, dando un nivel superior de conocimiento. (JAUSET, 2000). Se desconocían los efectos de la vacuna anti GnRH que podrían generarse en la experimentación con los ovinos.

#### ***2.3.3. Investigación explicativa***

Cuando en una investigación el investigador se plantea como objetivos estudiar el porqué de las cosas, hechos, fenómenos o situaciones. En este tipo de investigación se analizará causas y efectos de la relación entre variables; no sólo persigue describir o acercarse a un problema, sino que intenta encontrar las causas.(MORALES, 2014)

En este tipo este ensayo se dio a conocer en ovinos, los efectos de la vacuna anti GnRH sobre las concentraciones hormonales de LH, FSH, Testosterona, Cortisol y estructuras tanto a nivel macroscópico como microscópico de los testículos, para enriquecer más la información de la misma, a base de datos reales.

## ***2.4. Métodos y técnicas de investigación***

### ***2.4.1 Método experimental***

En sentido estricto, el método experimental es lo que llamamos un verdadero experimento. El investigador manipula una variable, y el control / aleatorización del resto de las variables. Cuenta con un grupo de control, los sujetos han sido asignados al azar entre los grupos, y el investigador sólo pone a prueba un efecto a la vez. También es importante saber qué variable (s) es la que desea probar y medir. (IZIDORO, 2003). El método experimental permitió conocer con exactitud, que la vacuna anti GnRH tuvo efectividad, disminuyendo la capacidad reproductiva de los animales en experimento tanto en los niveles hormonales de (LH, FSH, Testosterona) cortisol, histológico y morfológicamente.

### ***2.4.2. Método inductivo***

Ésta se utilizó para comprobar o examinar las características de un hecho o fenómenos. Consiste en proyectar la atención del participante sobre objetos, hechos o fenómenos, tal y como se presentan en la realidad. Aclarar algo difícil, ampliar su

contenido que obtiene conclusiones generales a partir de premisas particulares. (CASTELLANO, 2014). Se recolectó todos los datos que arroja esta investigación (resultados de los exámenes hormonales, medición de los testículos, tejido testicular), para comparar, analizar, y obtener conclusiones que determinó la existencia o no de supresión de la capacidad reproductora en los animales inmunoesterilizados.

### ***2.4.3. Método Deductivo***

El método deductivo consiste en la totalidad de reglas y procesos, con cuya ayuda es posible deducir conclusiones finales a partir de una exposición de conceptos y definiciones para extraer conclusiones y consecuencias, de los aspectos más relevantes del asunto, y formándole una visión general de una manera resumida y adecuada. (BUNGE, 2008). Mediante el proceso realizado en la aplicación de la vacuna, bloqueo la producción de GnRH actuando en los testículos de los ovinos, disminuyendo su capacidad reproductiva.

### ***2.4.4. Técnicas empleadas***

#### ***2.4.4.1. Técnica de Observación.***

Se observar muy interesadamente el fenómeno, hecho o caso, tomar información y registrarla para su posterior análisis. Es un elemento fundamental de todo proceso investigativo; en ella se apoya el investigador para obtener el mayor número de datos. (PIMIENTA, 2012). Se utilizó la técnica de observación en todo el proceso de investigación iniciando desde la elección de los animales, posterior la administración de la vacuna GnRH, obtención de las muestras, medición de la morfometría testicular tanto en el contorno como el largo, la técnica de esterilización quirúrgica, proceso histológico y así obteniendo los datos que arrojaba esta investigación.



#### ***2.4.4.2. Técnica de fichaje.***

El fichaje es una técnica auxiliar de todas las demás técnicas empleada en investigación científica; consiste en registrar los datos que se van obteniendo en los instrumentos llamados fichas, las cuales, debidamente elaboradas y ordenadas contienen la mayor parte de la información que se recopila en una investigación. (BAVARESCO, 1997). Se empleó esta técnica de investigación para obtener un registro de documentos de todos los datos que se obtuvieron durante todo el proceso de investigación, de esta manera facilitando en la recopilación de los datos de las muestras sanguíneas, de los resultados hormonales y la morfometría testicular,

### ***2.5. Diseño experimental.***

Para la interpretación de los resultados en este experimento se utilizó el análisis estadístico ADEVA utilizando T de student y Duncan al 5 % cuando hay significancia, con el modelo completamente al azar porque los animales y grupos fueron seleccionados al azar, para los análisis hormonales de (FSH LH Testosterona y Cortisol) peso testicular y para la morfología testicular de la primera semana se utilizó Duncan al 5 %. A partir de la segunda semana de la morfología testicular se utilizó el diseño t de student al 5 %, que permite construir modelos estadísticos para el análisis de los datos experimentales. Básicamente es un procedimiento que permite dividir la varianza de la variable dependiente, generalmente variable continua, en dos o más componentes, cada uno de los cuales puede ser atribuido a una fuente (variable o factor) identificable y la otra al error experimental. Las variables independientes son generalmente nominales, son los Factores en estudio y hacen grupos o tratamientos.

**CUADRO N°1 ESQUEMA DEL ANALISIS DE VARIANZA**

<b>FUENTE DE VARIACIÓN</b>	<b>GRADOS DE LIBERTAD</b>
Total	11
Tratamientos	2
Error experimental	9

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

## **2.6. Unidad experimental**

Para el desarrollo del presente experimento se emplearon 12 animales ovinos, machos de similares características con un rango de edad de tres a cuatro meses, de raza Dorper, se dividieron al azar en tres grupos t1 que correspondió a los quirúrgicamente esterilizados,t2 inmuoesterilizados y t3 el testigo o grupo control.

### **2.6.1 Tratamientos**

#### **2.6.1.1 Tratamiento 1.**

Grupo llamado EQ (machos esterilizados quirúrgicamente) conformado de cuatro animales, los cuales fueron castrados quirúrgicamente por el método tradicional.

#### **2.6.1.2 Tratamiento 2.**

Grupo llamado IE (machos inmunoesterilizados) conformado de cuatro animales, a los que se les administro 3 dosis de la vacuna anti – GnRH. En una dosis de 2ml via subcutánea con intervalo de 15 días entre aplicación.

### **2.6.1.3 Tratamiento 3.**

Grupo llamado T (Machos control o testigos) conformado de cuatro animales, a los cuales no se administró absolutamente nada.

**CUADRO N°2 RESUMEN DE TRATAMIENTOS**

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
<b>T1</b>	Esterilizados Quirúrgicamente
<b>T2</b>	Inmunoesterilizados
<b>T3</b>	Testigos o Grupo Control

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

## **2.7 Manejo del ensayo**

### **2.7.1. Selección de los animales, distribución e inicio de la fase de experimental**

En el lugar del establo se realizó la respectiva adecuación para la recepción de los ovinos destinados al presente experimento.

Después de recibir a los 12 ovinos, con una edad de tres a cuatro meses de edad, se dividió a los animales en tres grupos, quedando de esta manera, un grupo de cuatro animales destinados para realizar la esterilización quirúrgica tradicional (T1), el siguiente grupo conformado de cuatro animales, para ser aplicados la vacuna anti GnRH (T2), seguido el tercer grupo quedando conformado de cuatro animales que son los testigos o control (T3).

Grupo 1: Esterilizados quirúrgicamente

Grupo 2: Inmunoesterilizados

Grupo 3: Testigos o grupo control.

### **2.7.2. Toma de datos e identificación a cada grupo**

Los animales de cada grupo fueron identificados individualmente en su ficha para determinar las principales características, también cada grupo fue identificado con numeración.

**Cuadro N°3: IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS**

<b>CANTIDAD</b>	<b>Tratamiento 1</b>	<b>N. Arete</b>
1	EQ	46
2	EQ	52
3	EQ	13
4	EQ	33
	<b>Tratamiento 2</b>	
1	IE	102
2	IE	259
3	IE	218
4	IE	113
	<b>Tratamiento 3</b>	
1	T.C	41
2	T.C	203
3	T.C	54
4	T.C	72

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

### **2.7.3. Toma de muestras sanguíneas**

A cada semoviente se los extrajo cinco ml. de sangre entera de la vena yugular para el análisis hormonal pre- experimentación, la segunda muestra se obtuvo dos semanas después, antes de la aplicación de la vacuna GnRH, la última muestra se extrajo de la misma manera dos semanas después, antes de la aplicación de la última vacuna. En los tres grupos, el experimento se inició el mismo día, con la

finalidad de analizar los resultados obtenidos y estos no generen variación en el tiempo.

#### ***2.7.4. Aplicación de la vacuna anti – GnRH***

La vacuna anti GnRH se aplicó al grupo inmuoesterilizado con una dosis de 2ml, por vía subcutánea, con un intervalo de dos semanas administrándose tres dosis.

#### ***2.7.5. Grupo de castración al inicio***

Se midió la (morfología testicular), el largo y el contorno (diámetro), luego se procedió a la cirugía aplicando al grupo el método denominado cirugía a testículo abierto, seguidamente se pesaron los testículos extraídos y se colocaron en frascos en formol al 10 %, y se luego cada dos semanas se extrajo 2 muestras de cinco ml. de sangre entera de la vena yugular.

#### ***2.7.6. Manejo del Grupo testigo***

Se midió la morfometría de los testículos, contorno (diámetro) y el largo, una vez cada ocho días, la muestra sanguínea se recolecto con un intervalo de quince días por dos ocasiones hasta que culmine la fase experimental. Finalmente la castración se realizó al final de experimento al igual que en el grupo de los inmuoesterilizados, con el mismo método de testículo abierto. Los testículos fueron pesados y colocados en formol al 10 %. Permaneciendo ocho días en conservación para que la penetración sea efectiva.

#### ***2.7.7. Grupo inmuoesterilizado (IE)***

A los animales de este grupo se midieron los testículos, se obtuvo la muestra sanguínea de la vena yugular, el mismo día se le rasuro 10cm caudal a la escapula para luego ser administrado 2 ml de la vacuna anti GnRH, por la vía subcutánea. La primera aplicación se realizó el día de inicio de la experimentación después de haber extraído la muestra sanguínea, La segunda dosis se aplicó posterior a los 15 días siguientes, después de la extracción de la muestra de sangre, de la misma manera se aplica la tercera dosis pasado los siguientes quince días posterior a la toma de la muestra de sangre. Las muestras sanguíneas fueron llevadas al laboratorio para su procesamiento. La medición testicular se realizó una vez por semana por 6 semanas consecutivas. Se terminó la fase de experimentación y se efectuó la orquiectomía, aplicando la misma técnica de testículo abierto, con la diferencia que no se utilizó anestesia, para prevenir la posible alteración de los resultados histológicos.

#### ***2.7.8. Proceso para realizar el estudio histológico***

##### ***2.7.8.1. Proceso de fijación de los testículos para el respectivo estudio***

A los testículos se incidió en dos partes de manera transversal, se colocó en formol al 10 %, en frascos individuales y bien marcados de acuerdo al número de arete de cada individuo de los grupos. Las muestras se colocan en refrigeración por ocho días para su perfecta penetración y absorción, el formol fija el tejido, actúa como conservante, produce poca retracción tisular, compatible con la mayoría de las tinciones histológicas.

En los laboratorios de AGROCALIDAD, Tumbaco, se sacó las muestras testiculares del envase con medio de fijación, seguidamente se incidió parte del testículo por detrás del epidídimo determinando un grosor de 3-4 mm y con un ancho de 0.5 cm observando que pueda entrar en el casett histopatológico, el tejido listo, se recoge con

la pinza con mucho cuidado para colocarlo en el casett de inclusión, serramos e identificamos la muestra con un lápiz.

Ubicamos el casett con la muestra en alcohol al 70 % hasta cubrir por completo la muestra por un tiempo de 10 a 15 minutos.

#### **2.7.8.2. Deshidratación de la muestra e inclusión en parafina**

Las muestras se extrajeron del alcohol, y se colocaron en la respectiva canasta de acero inoxidable, tapamos y ubicamos en el equipo procesador de tejido, de manera electrónica programamos al equipo para que inicie con el proceso. Permanecieron las muestras por 18 horas pasando por diferentes reactivos, en tiempos determinados, que lo detallamos en el siguiente cuadro.

**Cuadro N4: PROCESO DE INCLUSION DE PARAFINA**

ESTACIÓN	REACTIVOS %	TIEMPO horas
01	Alcohol 96	0
02	Alcohol 70	3.30
03	Alcohol 70	5.30
04	Alcohol 70	1
05	Alcohol 96	1
06	Alcohol 96	1
07	Alcohol 100	1
08	Alcohol 100	1
09	Xilol	1
10	Xilol	1
11	Parafina	1
12	Parafina	1

**Fuente:** Directa

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra.

Seguidamente el equipo retira el alcohol y el formol de las muestras de tejido, pasando por diferentes porcentajes de alcohol, el xilol saca al alcohol. El histoprocador tiene como función realizar la deshidratación del tejido e introducir parafina a nivel celular mediante una serie de pasos y reactivos.

#### ***2.7.8.3. Inclusión en parafina líquida y formación del bloque.***

El equipo llamado centro de inclusión de parafina, está dividido en tres secciones: la cámara de conservación térmica a (65°C) en la cual se coloca las muestras, el plato caliente en donde la superficie se encuentra a (65°C) y la parafina a (64°C) cuya función es colocar la parafina en el molde, y el plato frío con una temperatura de (-20° C) en la que se congela la muestra con la parafina.

#### **Procesos**

- Se retiró las muestras del histoprocador.
- Se Colocó inmediatamente en la máquina de conservación térmica.
- Se extrajo el tejido del casset y se ubicó en el molde situándolo fijamente en el centro, posteriormente se agregó la parafina líquida y se colocó la cubierta del casset.
- Seguidamente se Colocó el molde en el plato frío para conseguir la solidificación de la parafina hasta que esté bien compacto.
- Y se mantuvo en refrigeración los bloques de parafina.

#### ***2.7.8.4. Corte mediante micrótopo para parafina.***

Una vez que ya estuvo listo el baño maría, se preparó el micrótopo para el siguiente proceso, se colocó al bloque de parafina sólida que es la muestra, en la prensa del equipo, con mucha precaución se ubicó el seguro, y se fue acercando a la cuchilla la



muestra para ir regulando el corte, ya listo, se programó para que el corte tenga la medida de 5 umm y seguidamente cortamos las muestra definitivas.

Recolección de la muestra en el porta objetos:

Una vez que se realizó el corte, y se obtuvo las finas películas, se las puso en baño maría a una temperatura entre 41° y 43°C. Se introdujo el portaobjetos y cuidadosamente se procedió a coleccionar la muestra que se encontraba flotando en el baño maría, tratando de que la muestra quede en el centro. Una vez recolectadas las muestras se dejaron a secar al aire libre.

#### **2.7.8.5. Tinción.**

Las placas ya listas se instalaron en la canastilla del carrusel de tinción con una duración de 46- 49 minutos pasando por las siguientes estaciones:

Programa uno:

Estación 1 XILOL 7 min.

Estación 2 XILOL 7 min.

Estación 3 ALCOHOL 100 grados 5 min

Estación 4 ALCOHOL 100 grados 5 min

Estación 5 ALCOHOL 96 grados 5 min

Estación 6 ALCOHOL 70 grados 5 min

Estación 7 Agua destilada 5 min

Estación 8 Hematoxilina 1 min.

Programa dos:

Estación 9 Eosina 20 seg

Estación 10 Alcohol 70 5 min

Estación 11 Alcohol 96 5 min

Estación 12 XILOL 5 min

Posterior a este proceso a las placas se llevó a lavarles con agua a chorro continuo, esto permite que las sales que contiene el agua, a la muestra cambie a un color más violeta

**Deshidratación del tejido en el porta objeto:**

La deshidratación final es necesaria porque el medio de montaje no suele ser hidrosoluble. Este proceso se lo realizó de la siguiente manera.

**CUADRO N°5. Proceso de Deshidratación y aclaración final**

<b>Paso:</b>	<b>Reactivos:</b>	<b>Tiempo:</b>
01	Alcohol 70%	3 min
02	Alcohol 96%	3 min
03	Alcohol 100%	3 min
04	Alcohol 100%	3 min
05	Xilol 1	5 min
06	Xilol 2	5 min

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Montaje del cubre objeto:** Consiste en colocar sobre el corte coloreado, una gota de una sustancia adherente (resina natural como el bálsamo de Canadá o resinas sintéticas, cuyos índices de refracción son similares a los del vidrio), se aplicó una gota sobre el tejido, lo cubrimos con una laminilla cubreobjetos, evitando que no queden burbujas de aire entre la resina sintética. De esta manera quedo lista la placa para poder ser observada en el microscopio.

## CAPÍTULO III

### 3. Análisis de los resultados

En el presente capítulo se analizan los resultados obtenidos en la investigación como son los niveles de concentración hormonal pre, durante y post experimentación, morfometría testicular, diámetro de los túbulos seminíferos e interpretación de las placas histológicas.

#### *3.1. Niveles de concentración hormonal*

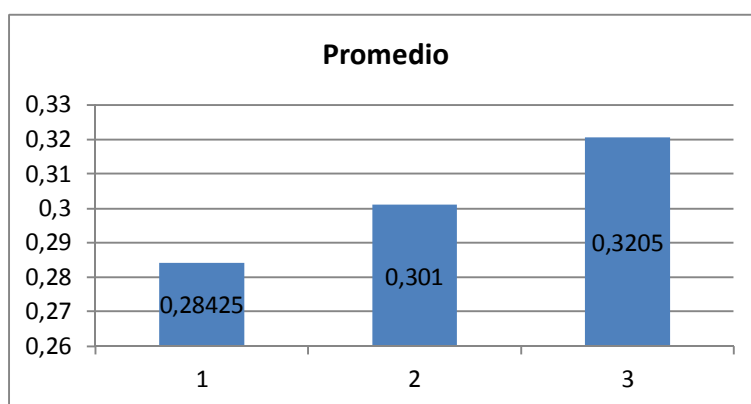
**Tabla N°1: RESULTADOS DE LH mUI/ml (pre- experimentación)**

<b>Unid Experimental</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>
1	0,249	0,285	0,352
2	0,312	0,292	0,318
3	0,321	0,308	0,292
4	0,255	0,319	0,320
<b>Promedio</b>	0,284	0,301	0,320

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°01: PROMEDIO DE LH mUI/ml (pre experimentación)**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

En la tabla 1 y gráfico 1 se determinaron los valores promedio de concentración LH, en el t3 se presentó el valor más alto (0,3205 mUI/ml.) pre-ensayo, siendo el t1 con el menor valor de concentración el cual obtuvo un promedio de 0,28425 mUI/ml.

**Tabla N°02: ADEVA LH mUI/ml (pre experimentación) (P<0.05)**

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	2,60E-03	2	1,30E-03	1,76	0,2267 Ns
Error	0,01	9	7,50E-04		
Total	0,01	11			
C V.	9,06				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 2, no existe diferencia significativa para la hormona LH mUI/ml. de acuerdo al valor de p (0,2267) no es estadísticamente significativo. Sin embargo en relación a la tabla 01 y gráfico N° 1, se determina que existe diferencia numérica de promedios, estableciendo un rango de concentración de

la LH entre el t1 (0,284 mUI/ml) y el t3 (0,320 mUI/ml), considerándolos como normales de acuerdo a la edad y estado reproductivo de los grupos experimentales.

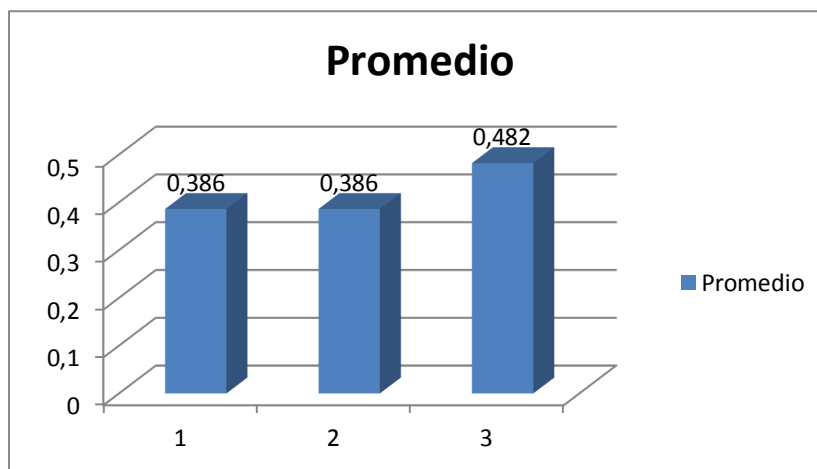
**Tabla N°03: RESULTADOS LH mUI/ml (experimentación)**

Unidad Experimental	T1	T2	T3
	0,424	0,318	0,420
	0,344	0,313	0,329
	0,366	0,570	0,448
	0,413	0,345	0,732
Promedio	0,386	0,386	0,482

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°02: PROMEDIO LH mUI/ml (experimentación)**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

En la tabla 3 y gráfico 2, refiere a los valores hormonales posterior a la primera inoculación de la vacuna, se observa que los promedios de los valores de concentración de LH del t1, t2 y t3 son más elevados respecto a los valores hormonales de los grupos del pre experimento. Se considera que este efecto de no

disminución de la concentración de LH se deba a una respuesta inmunitaria leve respecto a la vacuna utilizada y al fenómeno de retroalimentación negativa en el caso de los castrados.

**Tabla N°04: ADEVA LH mUI/ml (experimentación) (P<0.05)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	0,02	2	0,01	0,78	0,4872 Ns
Error	0,14	9	0,02		
Total	0,17	11			
CV	29,88				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 4, no existe diferencia significativa para la hormona LH mUI/ml. respecto al valor de p (0,609), considerándose en el caso del t1 que corresponde a los castrados quirúrgicamente que el descenso de LH es progresivo por el fenómeno de retroalimentación negativa progresiva, igual evento se considera con el grupo de los inmunoesterilizados ya que el estímulo inmunitario es leve y progresivo respecto a la producción de anti GnRH.

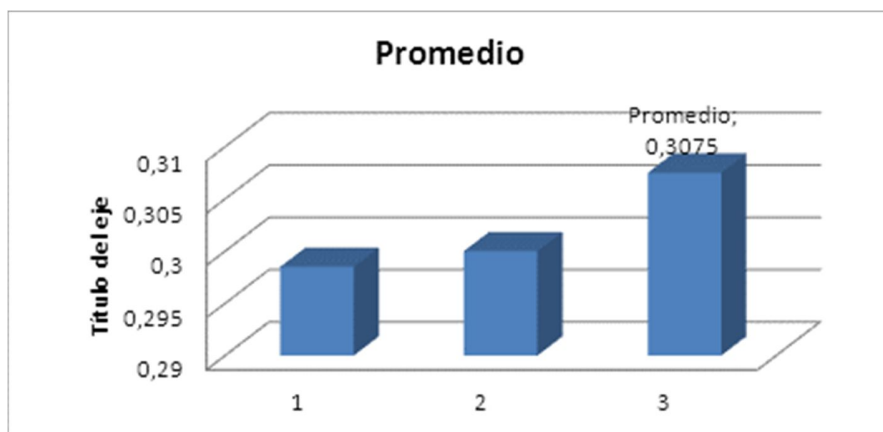
**Tabla N°05: RESULTADOS LH mUI/ml (pos-experimentación)**

Unidad Experimental	T1	T2	T3
1	0,287	0,327	0,308
2	0,284	0,310	0,321
3	0,334	0,284	0,294
4	0,289	0,279	0,307
Promedio	0,298	0,300	0,307

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°03: PROMEDIO LH mUI/ml (pos-experimentación)**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Respecto a los resultados de LH obtenidos posterior a la segunda inoculación de la vacuna (inmunocastración) se muestra en tabla 5 y gráfico 3, que los valores de concentración de LH disminuyen tanto en el t1 (0,298 mUI/ml) como en el t2 (0,300 mUI/ml) respecto al t3 (0,307 mUI/ml). Se considera que existe un efecto similar en los grupos castrados quirúrgicamente respecto a los inmunocastrados, Sin embargo los valores de LH en el grupo control T3 no disminuyen y se mantiene.

**Tabla N° 06: ADEVA RESULTADO LH mUI/ml (pos-experimentación)**

**(P<0.05)**

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	1,9004	2	9,30	0,23	0,7964 Ns
Error	3,6003	9	4,00		
Total	3,8003	11			
CV	6,61				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede analizar en la tabla 6, no existe diferencia significativa para la hormona LH mUI/ml. de acuerdo al valor de p (0,7964). Se determina que no existe diferencia significativa entre los grupos t1, t2 y t3 . Sin embargo numéricamente se evidencia diferencias en los valores de concentración de LH entre el t1, t2 respecto al t3. Los resultados presentados determinan que posterior a la segunda aplicación de la vacuna los efectos son más evidentes respecto a la influencia en la concentración de LH y su mantención.

### 3.2. Resultados de los exámenes hormonales DE FSH

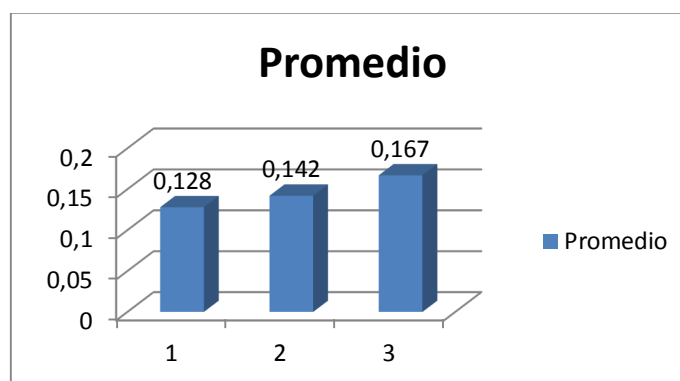
**Tabla N° 07: RESULTADOS FSH mUI/ml (pre-experimento)**

Unidad Experimental	T1	T2	T3
1	0,108	0,102	0,198
2	0,107	0,100	0,199
3	0,199	0,180	0,105
4	0,101	0,188	0,167
Promedio	0,128	0,142	0,167

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N° 04: PROMEDIO FSH (pre-experimento)**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra



En la tabla 7 y gráfico 4 se determinaron los valores promedio de concentración de FSH, presentando un valor de concentración de 0,167 mUI/ml. en el t3, mientras en t2 presenta un valor de concentración de FSH de 0,1425 mUI/ml y el t1 con un valor promedio de concentración de hormona de 0,12875 mUI/ml.

**Tabla N°08: ADEVA FSH mUI/ml (pre-experimento) (P<0.05)**

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	3,003	2	1,50	0,71	0,5182 Ns
Error	0,02	9	2,20		
Total	0,02	11			
CV	31.73				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 8, no existe diferencia estadística para los valores de la hormona FSH mUI/ml.; de acuerdo al valor de p (0,5182) no es significativo. Sin embargo en relación a la tabla 07 y gráfico N° 4, se determina que existe diferencia numérica de promedios, estableciendo un rango de concentración de la FSH entre el t1 (0,128 mUI/ml) y el t3 (0,167 mUI/ml) considerándolos como normales de acuerdo a la edad y estado reproductivo de los grupos experimentales.

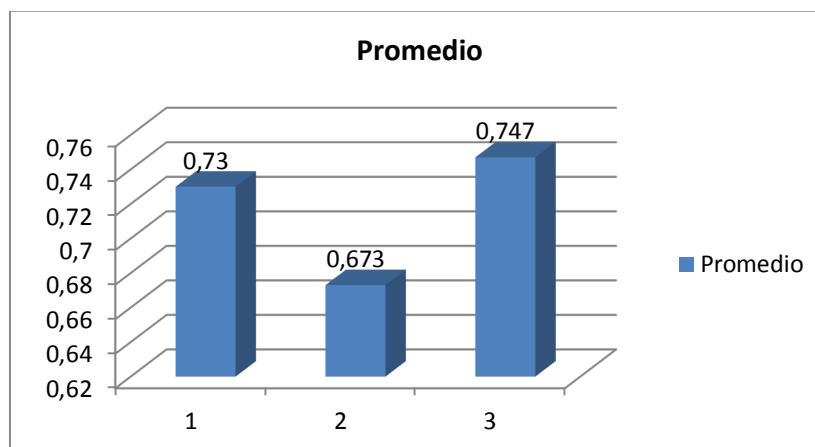
**Tabla N°09: RESULTADOS FSH mUI/ml (experimento)**

Unidad Experimental	T1	T2	T3
1	0,890	0,940	0,308
2	0,960	0,790	0,950
3	0,100	0,112	0,990
4	0,970	0,850	0,740
Promedio	0,730	0,673	0,747

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°05: PROMEDIO de FSH (experimento)**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

En la tabla número 9 y gráfico 5, refiere a los valores hormonales posterior a la primera inoculación de la vacuna, se observa que los promedios de los valores de concentración de FSH del t1, t2 y t3 son más elevados respecto a los valores hormonales de los grupos del pre experimento. Se considera que este efecto de no disminución de la concentración de LH se deba a una respuesta inmunitaria leve respecto a la vacuna utilizada.

**Tabla N°10: ADEVA FSH mUI/ml (experimento) (P<0.05)**

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Tratamiento</b>	0,01	2	0,01	0,04	0,9581 Ns
<b>Error</b>	1,26	9	0,14		
<b>Total</b>	1,27	11			
<b>CV</b>	52,15				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede analizar en la tabla 10, no existe diferencia significativa para la hormona FSH mUI/ml. de acuerdo al valor de p (0,9581). Se determina que no existe diferencia significativa entre los grupos t1, t2 y t3 . Sin embargo numéricamente se evidencia diferencias muy leves en los valores de concentración de FSH entre el t1, t3 respecto al t2. Los resultados presentados determinan que posterior a la primera aplicación de la vacuna los efectos son poco evidentes respecto a la influencia en la concentración de FSH y su mantención. Considerándose en el caso del t1 que corresponde a los castrados quirúrgicamente que el descenso de FSH no se evidencia pese a no poseer los testículos, así el grupo de los inmuoesterilizados posiblemente por un efecto inmunitario leve y progresivo la producción de anti GnRH. Sin embargo, se evidencia que el grupo control t3 incremento su promedio de concentración hormonal respecto a la primera toma, y la mantiene en comparación con el t1 y t2.

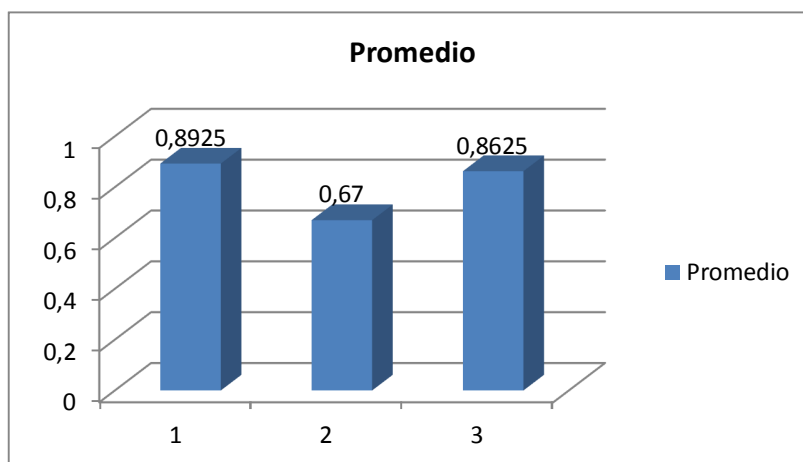
**Tabla N° 11: RESULTADOS FSH mUI/ml (post-experimento)**

Unidad Experimental	T1	T2	T3
	0,870	0,800	0,930
	0,890	0,100	0,830
	0,960	0,870	0,830
	0,850	0,910	0,860
Promedio	0,892	0,670	0,862

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°06: Promedio de FSH (post-experimento)**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Respecto a los resultados de FSH obtenidos posterior a la segunda inoculación de la vacuna (inmunocastración) se muestra en tabla 11 y gráfico 6, que los valores de concentración de FSH del t2 (0,670 mUI/ml) se mantienen respecto a la primera inoculación y disminuyen frente al T1 (0,892 mUI/ml) y T3 (0,862 mUI/ml). Se considera que existe un efecto más marcado en los inmunoesterilizados versus los castrados quirúrgicamente y el control.

**Tabla N° 12: ADEVA FSH (post-experimento) (P<0.05)**

F.V.	SC	G1	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,12	2	0,06	1,16	0,3567 Ns
Error	0,45	9	0,05		
Total	0,57	11			
CV	27,75				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se evidencia en la tabla 12, no hubo diferencia significativa para la hormona FSH mUI/ml. de acuerdo al valor de p (0,3567) .Sin embargo numéricamente se evidencia diferencias en los valores de concentración de FSH entre el t1, t3 respecto al t2. Los resultados presentados determinan que posterior a la segunda aplicación de la vacuna los efectos son más evidentes respecto a la influencia en la concentración de FSH y su mantención.

### 3.3 Cuadro de análisis de la Testosterona

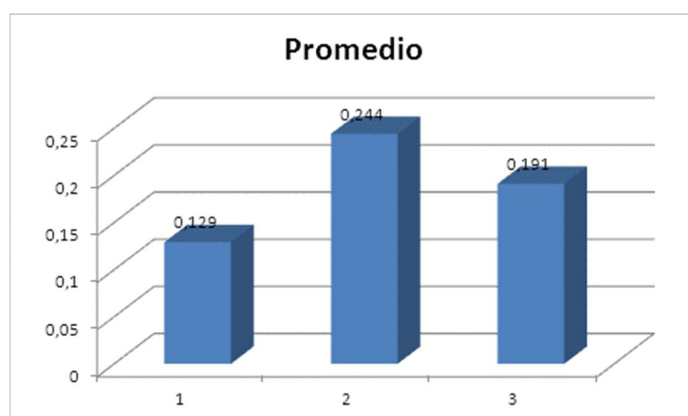
**Tabla N°13: RESULTADOS TESTOSTERONA ng/ml (pre-experimento)**

Unidad Experimental	T1	T2	T3
1	0,021	0,675	0,429
2	0,342	0,025	0,029
3	0,023	0,250	0,280
4	0,131	0,026	0,028
Promedio	0,129	0,244	0,191

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Grafico N°07: PROMEDIO TESTOSTERONA (pre-experimento)**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

En la tabla 13 y gráfico 7 se determinaron los valores promedio de concentración de testosterona, presentando un valores promedio de concentración en los diferentes grupos, así el t1 0,129mUI/ml, t2 0,244mUI/ml y t3 0,191mUI/ml. considerados normales y dentro de los parámetros citados de acuerdo a la edad de los ovinos del experimento.

**Tabla N°14: ADEVA TESTOSTERONA ng/ml (pre-experimento) (P<0.05)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	0,03	2	0,01	0,25	0,7808 Ns
Error	0,47	9	0,05		
Total	0,49	11			
CV	121				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 14, no existe diferencia estadística para los valores de la hormona testosterona, de acuerdo al valor de p (0,0467) se considera que es no significativo. Sin embargo numéricamente se determina que existe diferencia que marcan rangos del nivel hormonal creciente. Justificándose el evento debido a que los semovientes podrían ser animales dominantes o encontrarse en etapa de inicio de la pubertad

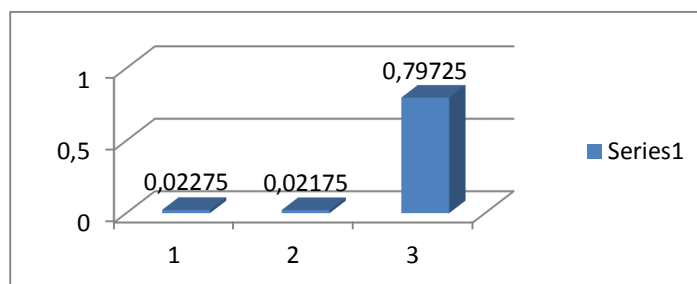
**Tabla N°15 RESULTADOS TESTOSTERONA ng/ml (experimento)**

Unidad Experimental	T1	T2	T3
1	0,021	0,025	1,770
2	0,022	0,020	0,546
3	0,025	0,023	0,076
4	0,023	0,019	0,797
Promedio	0,022	0,021	0,797

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N° 08: PROMEDIO DE TESTOSTERONA (experimento)**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

En la tabla 15 y el gráfico 8, se determinaron los valores promedio de concentración de testosterona posterior a la primera inoculación de la vacuna ( inmunocastración ), esterilizados quirúrgicamente y grupo control; se observa que los niveles de testosterona del t3 (0,797 ng/ml) aumentan considerablemente respecto al t1 (0,022 ng/ml ) y t2 (0,021 ng/ml) además de los valores de la primera toma en el pre experimento. Los niveles de concentración de testosterona del t1 y el t2 han disminuido considerablemente comparado con los niveles del pre experimento. Se evidencia que existe un efecto directo de la vacuna en contraste con la producción de

testosterona, posiblemente por el efecto inmunosupresor generado por el sistema inmunológico reflejado en la disminución de la testosterona.

**Tabla N° 16: ADEVA TESTOSTERONA ng/ml (experimentación) (P<0.05)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	1,60	2	0,80	4,71	0,0398*
Error	1,53	9	0,17		
Total	3,13	11			
CV	146,93				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Los resultados presentados en la tabla 16 confirman que existe diferencias significativas dando un valor de p (0,0398) por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento posterior a la primera inoculación. Considerándose, que la aplicación de la vacuna influye en la concentración de testosterona, en el caso de los inmuoesterilizados disminuyo de (0.081ng/ml a 0.021ng/ml), en el caso de los esterilizados quirúrgicamente disminuyo de (1,225 ng/ml a 0.022ng/ml) debido a la extirpación total de las gónadas. Mientras el grupo control t3 aumento sus niveles de concentración de testosterona de (0.022ng/ml a 0.797 ng/ml) generada por el crecimiento y acercamiento a la pubertad.

**Tabla N° 17. Test:Duncan Alfa=0,05 para TESTOSTERONA ng/ml**

*Error: 0,1700 gl: 9*

TRATAMIENTO	Mediasn	E.E.
1,00	0,02 4	0,21 A
2,00	0,02 4	0,21 A
3,00	0,80 4	0,21 B

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra



En el test de Duncan se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias, en este caso existen dos rangos de diferencia que están determinadas particularmente entre los grupos t1 A y t2 A respecto al grupo t3 B. Por lo tanto se considera que en el caso de los castrados quirúrgicamente y los inmunoesterilizados han reducido significativamente la concentración de testosterona sérica respecto el grupo testigo o control. Según PALMA, 2001 indica que la LH es la encargada de estimular a las células intersticiales a que producen testosterona que llega hasta el túbulo seminífero por difusión simple para el mantenimiento adecuado de la espermatogénesis y es controlada por la hormona LH, si no se produce esta hormona se detiene la producción de testosterona y se genera una gran reducción en el tamaño de las células de Leydi.

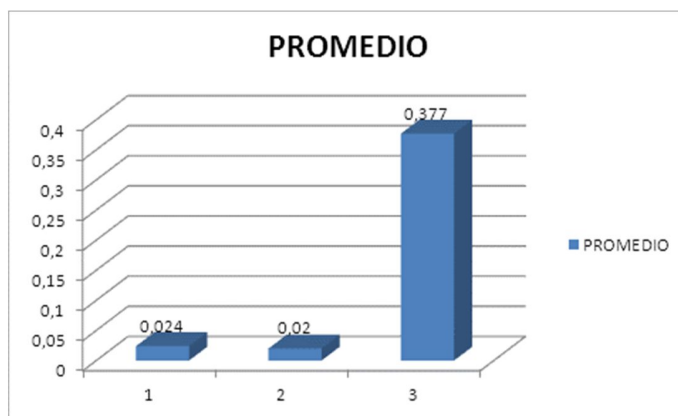
**TablaN°18: RESULTADOS DE TESTOSTERONA (post-experimentación)**

Unidad Experimental	T1	T2	T3
1	0,025	0,021	0,136
2	0,023	0,024	0,200
3	0,030	0,015	0,841
4	0,019	0,020	0,332
Promedio	0,024	0,020	0,377

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°09: PROMEDIO TESTOSTERONA (post-experimento)**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

En la tabla 18 y el gráfico 9, se determinaron los valores promedio de concentración de testosterona posterior a la segunda inoculación de la vacuna (inmunocastración), esterilizados quirúrgicamente y grupo control; se observa que los niveles de testosterona del t3 (0,332 ng/ml) aumentan considerablemente respecto al t1 (0,024 ng/ml) y t2 (0,020 ng/ml). Los niveles de concentración de testosterona del t1 y el t2 han disminuido y se han mantenido constantes comparado con el grupo control t3. Es evidente que existe un efecto directo de la vacuna en contraste con la producción de testosterona, posiblemente por el efecto inmunosupresor generado por el sistema inmunológico reflejado en la disminución de la testosterona y por la supresión total de las gónadas en el caso de los castrados quirúrgicamente.

**Tabla N°19: ADEVA TESTOSTERONA ng/ml (post-experimento) (P<0.05)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	0,34	2	0,17	4,93	0,0358 *
Error	0,31	9	0,03		
<u>Total</u>	<u>0,64</u>	<u>11</u>			
CV	131,42				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Los resultados presentados en la tabla 19 confirman que existe diferencias estadísticas significativas dando un valor de p (0,0398) por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento posterior a la segunda inoculación. Considerándose que la aplicación de la vacuna influye en la concentración de testosterona, es importante considerar que los valores obtenidos de la segunda inoculación tiene una relación directa sobre la secreción de esta hormona.

**Tabla N° 20. Test:Duncan Alfa=0,05 para TESTOSTERONA ng/m**

*Error: 0,0341 gl: 9*

TRATAMIENTO	Mediasn	E.E.
1,00	0,02 4	0,09 A
2,00	0,02 4	0,09 A
3,00	0,38 4	0,09 B

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

En el test Duncan de correspondiente a la tabla 20 se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias, en este caso existen dos rangos de diferencia que están determinadas particularmente entre los grupos t1 A y t2 A respecto al grupo t3 B. Por lo tanto se considera que en el caso de los castrados

quirúrgicamente y los inmunoesterilizados han reducido significativamente la concentración de testosterona sérica respecto el grupo testigo o control. Según PALMA, 2001 indica que la LH es la encargada de estimular a las células intersticiales a que producen testosterona y la FSH del estímulo de los túbulos seminíferos, su bloqueo generaría atrofia testicular y caída de los niveles de testosterona.

### 3.4 Resultados de los exámenes de cortisol

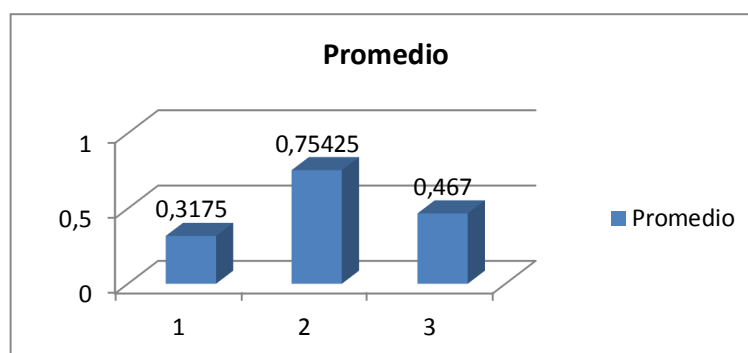
**TablaN°21: RESULTADOS DE CORTISOL ug/ml (pre-experimental)**

Unidad Experimental	T1	T2	T3
1	0,025	1,740	1,110
2	0,612	0,425	0,191
3	0,188	0,619	0,100
4	0,445	0,233	0,467
Promedio	0,317	0,754	0,467

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°10: PROMEDIO CORTISOL (pre-experimental)**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Con referencia a la tabla 21 y gráfico 10, se determinaron los valores promedio de concentración de cortisol pre-experimental determinando los valores para el t1 0,317 ug/ml, t2 0,75425 ug/ml y t3 0,467 ug/ml. Sin embargo es importante considerar que según Knowles y col (1993) en corderos en reposo los rangos van de 0,84 a 0,94 ug/dl y los sometidos a estrés, demostraron cambios con rangos de cortisol de 1,4 - 3,1 ug/dl.

**Tabla N°22: ADEVA CORTISOL ug/ml (pre-experimental) (P<0.05)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,39	2	0,2	0,81	0,4763 Ns
Error	2,2	9	0,24		
Total	2,59	11			
CV	96,35				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 22, no existe diferencia estadística para los valores de la hormona cortisol ug/ml, de acuerdo al valor de p (0,4763) no es significativo. Sin embargo en relación a la tabla 21 y gráfico N° 10, se determina que existe diferencia numérica de promedios, estableciendo un rango de concentración de la cortisol entre el t1 (0,317ug/ml, t2 (0,754ug/ml) y el t3 (0,467ug/ml), considerando esta variación de los niveles de hormona, como un evento individual, y que se encuentra por debajo de los rangos reportados por Knowles y col (1993).

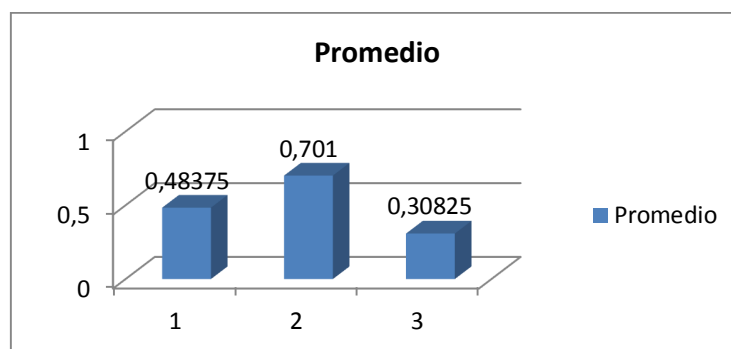
**Tabla N°23: RESULTADOS CORTISOL ng/ml (experimento)**

Unidad Experimental	T1	T2	T3
1	0,510	0,349	0,337
2	0,219	0,899	0,234
3	0,951	0,607	0,354
4	0,255	0,949	0,308
Promedio	0,483	0,701	0,308

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°11: PROMEDIO CORTISOL (experimento)**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Con referencia a la tabla 23 y gráfico 11, se determinan los valores para el t1 0,483 ug/ml, t2 0,701 ug/ml y t3 0,308 ug/ml posterior a la primera inmunocastración, esterilización quirúrgica y grupo control. Sin embargo es importante considerar que se encuentran dentro de los rangos e inferior a los reportados por Knowles y col (1993) en corderos en reposo que van de 0,84 a 0,94 ug/dl y los sometidos a estrés, con rangos de cortisol de 1,4 - 3,1 ug/dl.

**Tabla N°24: ADEVA RESULTADOS CORTISOL ug/ml (experimento)**

**(P<0.05)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,31	2	0,15	2,39	0,1472 Ns
Error	0,58	9	0,06		
Total	0,89	11			
CV	51,15				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

En la tabla 24 se determina que no existe diferencia estadística p (0,1472). Sin embargo en relación a la tabla 23 y gráfico N° 11, se determina que existe diferencia numérica de promedios, estableciendo un rango de concentración del cortisol entre el t1 (0,483ug/ml, t2 (0,701ug/ml) y el t3 (0,308 ug/ml), considerando esta variación de los niveles de hormona, como un evento individual, y que se encuentra por debajo de los rangos reportados por Knowles y col (1993), no incidiendo en el bienestar de los animales.

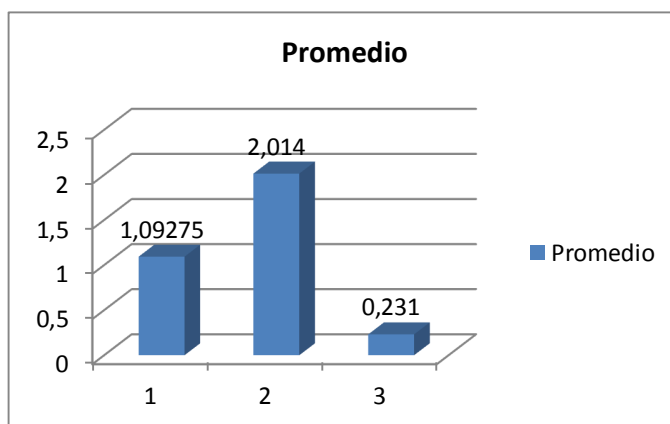
**Tabla N°25: RESULTADOS CORTISOL ng/ml (post-experimento)**

Unidad Experimental	T1	T2	T3
1	0,335	4,700	0,263
2	1,320	0,521	0,259
3	1,900	0,589,	0,171
4	0,816	0,821	0,231
Promedio	1,092	2,014	0,231

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°12: PROMEDIO CORTISOL (post-experimento)**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 25 y gráfico 12 sobre la concentración de cortisol en T2 es el más alto promedio (2.014), siendo relevante también el T1 con una concentración de 1,092

Con referencia a la tabla 23 y gráfico 11, se determinan los valores para el t1 0,483 ug/ml, t2 0,701 ug/ml y t3 0,308 ug/ml posterior a la segunda inmunocastración, esterilización quirúrgica y grupo control. Se observa que los niveles de cortisol del t1 y t2 se encuentran elevados y han superados los rangos establecidos en animales en reposo que describe Knowles y col (1993), Sin embargo el t3 mantiene los rangos establecidos cuando un animal no está sometido a estrés. Consideramos que son eventos ajenos al efecto generado por la castración quirúrgica y la inmunocastración. Ya que según Moberg (1987) el nivel de cortisol en sangre es la medida más clásica de estrés, aunque la concentración aumentada de cortisol sólo sería un indicador neuroendocrino primario. Sin embargo, según Knowles y col 1993; Cooper y col 1995; Warriss y col 1995; Horton y col 1996; Cockram y col 2000; Oyarce 2005; Tadich y col 2005; Brito 2007).la mayoría de los investigadores lo siguen usando como principal indicador de estrés.



**TablaN°26: ADEVA RESULTADO CORTISOLng/ml (post-experimento)**

**(P<0.05)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	5,47	2	2,74	1,79	0,2276 Ns
Error	12,23	8	1,53		
Total	17,7	10			
CV	119,95				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

En la tabla 26 se determina que no existe diferencia estadística  $p$  (0,227 ( $p>0,05$ )). Sin embargo en relación a la tabla 23 y gráfico N° 11, se determina que existe diferencia numérica de promedios, estableciendo un rango de concentración del cortisol entre el t1, y t2 muy superior respecto al t3, considerando esta variación de los niveles de hormona, como un evento individual que no corresponde a la castración quirúrgica, ni tampoco a la inmuoesterilización. Así mismo los rangos de cortisol del t1 y t2 se encuentra entre los rangos reportados por Knowles y col (1993), cuando los ovinos han sido sometidos a estrés. Además es importante señalar que el cortisol, necesario para el buen funcionamiento de las catecolaminas y especialmente para la movilización de ácidos grasos libres, es un indicador usado en periodos cortos de tiempo para distintos manejos tales como, la castración. Esta es una medida dependiente del tiempo que toma 10 a 20 minutos en alcanzar valores máximos (Lay y col 1992). Cunningham (1999) afirma que su vida media es de aproximadamente 60 minutos, siendo el hígado el órgano esencial para la eliminación de esta hormona, mediante la conjugación con sulfatos y glucorónidos, haciéndolo hidrosoluble para ser eliminado por la orina.

### 3.5 *Morfología testicular (MT), contorno y largo en (cm) por semanas*

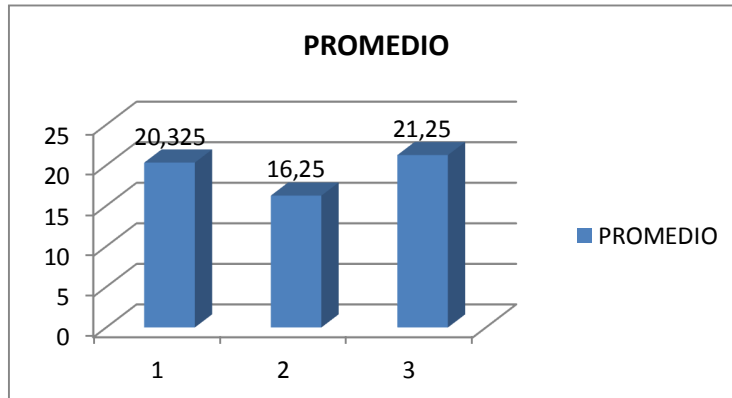
**Tabla N° 27: MT. CONTORNO (cm) SEMANA1**

Unidad Experimental	T1	T2	T3
1	20	22	12
2	20	12	23
3	21	16	25
4	20,3	15	25
PROMEDIO	20,325	16,25	21,25

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°13: PROMEDIO MT.CONTORNO (cm) SEMANA 1**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

En relación a la tabla 27 y gráfico 13, se puede determinar que existe diferencia numérica de promedios siendo el t3 el que presenta en mayor diámetro de circunferencia escrotal con un valor de 21,25 cm respecto a al t1 y t2. Estas diferencias en el diámetro o circunferencia escrotal son independientes en cada

grupo, ya que depende del factor individual de desarrollo testicular. Sin embargo las diferencias son mínimas y están acorde a la edad y raza de los ovinos.

**Tabla N° 28: ADEVA MT.CONTORNO (cm) SEMANA 1 (P<0.05)**

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	45,18	2	22,59	1,32	0,3146 Ns
Error	154,17	9	17,13		
<u>Total</u>	199,39	11			
CV	21,29				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 28, no existe diferencia estadística significativa de acuerdo al valor de p (0,3146); es decir no existe relación entre los grupos t1,t2 y t3 en relación al diámetro escrotal.

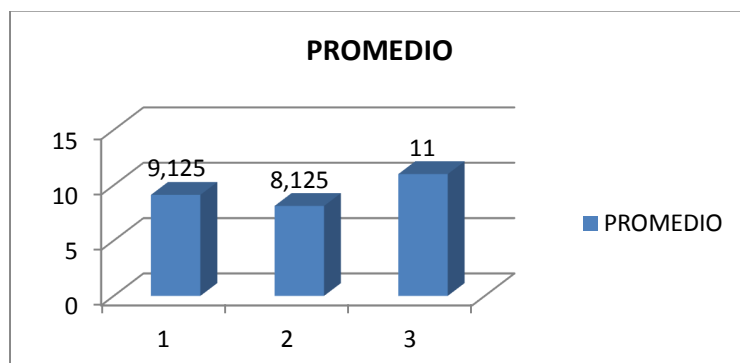
**Tabla N°29: MT. LARGO (cm) SEMANA 1**

Unidad Experimental	T1	T2	T3
1	8,5	11	6
2	9	7,5	12
3	10	7	13
4	9	7	13
PROMEDIO	9,12	8,12	11,00

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°14: PROMEDIO MT.LARGO (cm) SEMANA1**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

En relación a la tabla 29 y gráfico 14, se puede determinar que existe diferencia numérica de promedios siendo el t3 el que presenta el mayor rango de longitud escrotal con un valor de 11,00 cm respecto a al t1 y t2. Estas diferencias en el rango de longitud escrotal son independientes en cada grupo, ya que depende del factor individual de desarrollo testicular. Sin embargo las diferencias son mínimas y están acorde a la edad y raza de los ovinos.

**Tabla N°30: ADEVA MT. LARGO (cm) SEMANA 1 (P<0.05)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	17,04	2	8,52	1,65	0,2445 Ns
Error	46,38	9	5,15		
<u>TOTAL</u>	63,42	11			
CV.	24,11				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 30, no existe diferencia estadística significativa de acuerdo al valor de p (0,2445).es decir no existe relación entre los grupos t1, t2 y t3 en relación al diámetro escrotal.

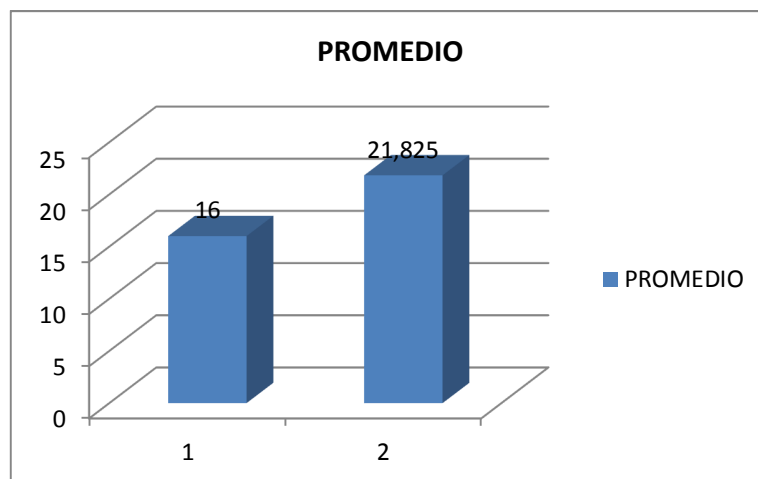
**Tabla N°31: MT. CONTORNO (cm) SEMANA 2**

Unidad Experimental	T2	T3
1	21,5	22
2	14	22
3	15,5	21,5
4	13	21,8
PROMEDIO	16	21,825

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°15: PROMEDIO MT. CONTORNO (cm) SEMANA 2**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Con referencia a la tabla 31 y gráfica 15 se observa diferencias numéricas en los promedios entre el t2 y t3.

**Tabla N°32: T DE STUDENT MT. CONTORNO (cm) SEMANA 2 (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	16,000	21,825
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-3,115	
P(T<=t) dos colas	0,053	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

La tabla 32 determina que no existe diferencia estadística significativa entre el t2 y t3 ya que el valor p es de 0,053 ( P (T<=t) dos colas).

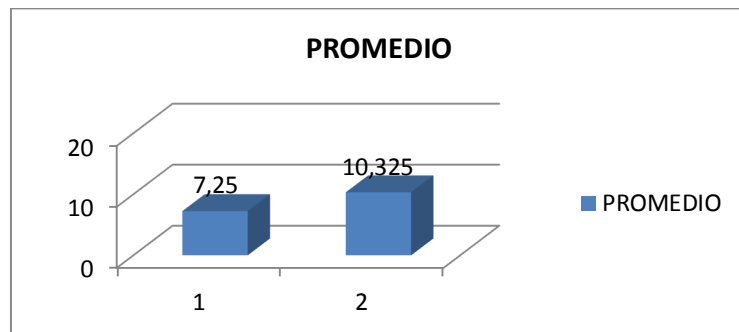
**Tabla N°33: MT LARGO (cm) SEMANA 2**

Unidad Experimental	T2	T3
1	11	11
2	5	10
3	7	10
4	6	10,3
PROMEDIO	7,25	10,32

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N° 16: PROMEDIO MT. LARGO SEMANA 2**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Con referencia a la tabla 33 y gráfica 16 se observa diferencias numéricas en los promedios entre el t2 y t3.

**Tabla N°34: T DE STUDENT MT. LARGO (cm) SEMANA 2 (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	7,2500	10,3250
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	2,7814	
P(T<=t) dos colas	0,0689 Ns	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

La tabla 34 determina que no existe diferencia estadística significativa es decir no existe relación entre los grupos t2 y t3 ya que el valor p es de 0,0689 (P (T<=t) dos colas).

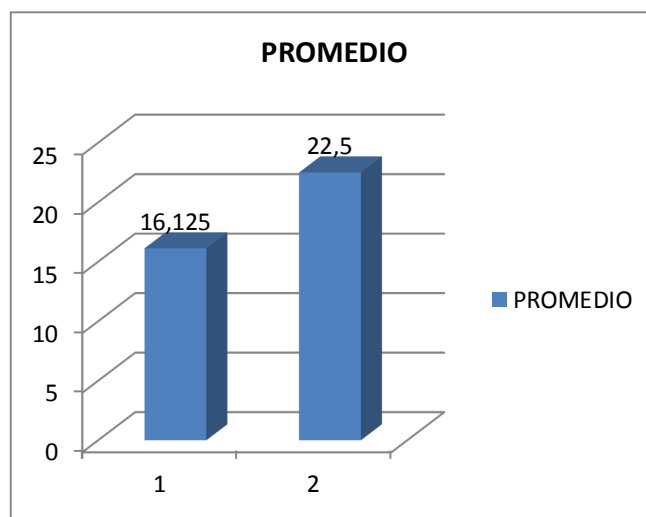
**Tabla N°35: MT. CONTORNO (cm) SEMANA 3**

Unidad Experimental	T2	T3
1	21,5	23,0
2	13,5	21,5
3	15,5	23,0
4	14,0	22,5
PROMEDIO	16,1	22,5

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°17: PROMEDIO MT. CONTORNO (cm) SEMANA 3**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

En relación a la tabla 35 y gráfico 17, se puede determinar que existe diferencia numérica de promedios siendo el t3 el que presenta en mayor diámetro de circunferencia escrotal con un valor de 22,5 cm respecto al t2 con 16,1 cm.



**Tabla N°36: T DE STUDENT MT. CONTORNO (cm) SEMANA 3 (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	16,125	22,500
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-3,892	
P(T<=t) dos colas	0,030*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 36, existe diferencia estadística significativa de acuerdo al valor de p (0,030) (P (T<=t) dos colas), es decir existe interacción entre las variables sobre los grupos t2 y t3.

**Tabla N°37: Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	16,125	22,500
Varianza	13,563	0,500
Observaciones	4,000	4,000
Coefficiente de correlación de Pearson	0,640	
Diferencia hipotética de las medias	0,000	
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-3,892	
P(T<=t) una cola	0,015	
Valor crítico de t (una cola)	2,353	
P(T<=t) dos colas	0,030*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Los resultados de la tabla 37 presentados en la prueba t confirman que existe diferencias estadísticas significativas, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento. Por lo tanto se considera que la aplicación de la vacuna influye en la concentración sérica de FSH, LH y testosterona, determinando disminución del diámetro escrotal del t2 inmunosterilizados de respecto el t3 grupo control.

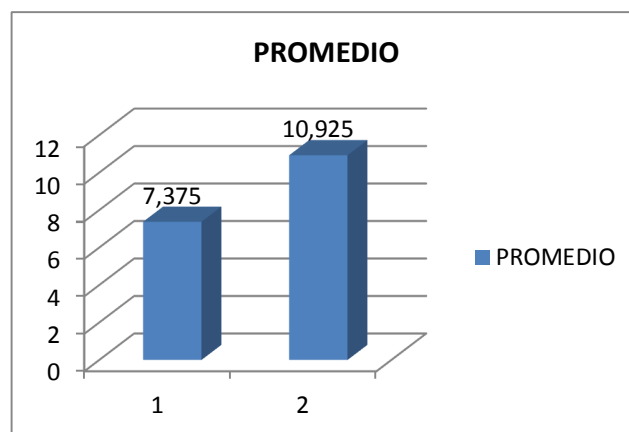
**Tabla N° 38: MT. LARGO (cm) SEMANA 3**

Unidad Experimental	T2	T3
1	11	11
2	6	10,3
3	6,5	11,5
4	6	10,9
PROMEDIO	7,375	10,925

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N° 18: PROMEDIO MT. LARGO SEMANA 3**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Con referencia a la tabla 38 y gráfica 18 se observa diferencias numéricas en los promedios entre el t2 y t3.

**Tabla N° 39: T STUDENT MT. LARGO (cm) SEMANA 3 (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	7,375	10,925
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-2,975	
P(T<=t) dos colas	0,059 Ns	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

La tabla 39 determina que no existe diferencia estadística significativa es decir no existe relación entre los grupos t2 y t3 ya que el valor p es de 0,059 (P (T<=t) dos colas). Pero en la tabla 38 y gráfico 18 si existe diferencia numérica.

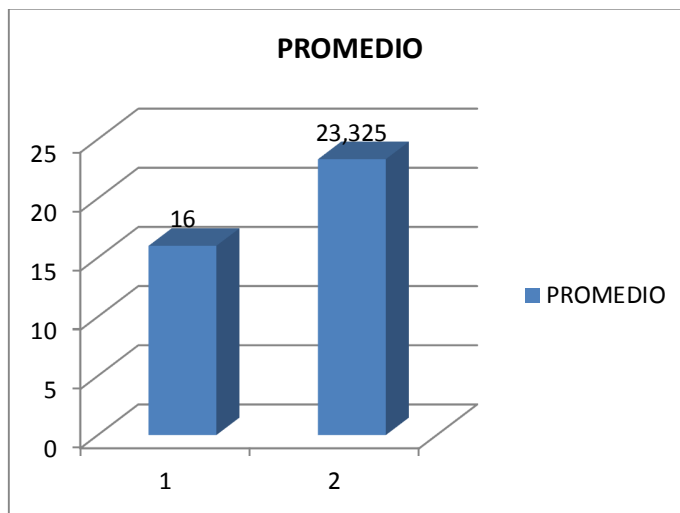
**Tabla N° 40: MT. CONTORNO (cm) SEMANA 4**

Unidad Experimental	T2	T3
1	22	23
2	14	24
3	15	23
4	13	23,3
PROMEDIO	16	23,32

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N° 19: PROMEDIO MT. CONTORNO SEMANA 4**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

En relación a la tabla 40 y gráfico 19, se puede determinar que existe diferencia numérica de promedios siendo el t3 el que presenta en mayor diámetro de circunferencia escrotal con un valor de 23,32 cm respecto al t2 con 16,00 cm.

**Tabla N°41: T DE STUDENT MT. CONTORNO (cm) SEMANA 4 (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	16,000	23,325
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-3,377	
P(T<=t) dos colas	0,043*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 41, existe diferencia estadística significativa de acuerdo al valor de p (0,043) (P (T<=t) dos colas), es decir existe interacción entre las variables sobre los grupos t2 y t3.

**Tabla N°42: Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	16,000	23,325
Varianza	16,667	0,223
Observaciones	4,000	4,000
Coeficiente de correlación de Pearson	-0,502	
Diferencia hipotética de las medias	0,000	
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-3,377	
P(T<=t) una cola	0,022	
Valor crítico de t (una cola)	2,353	
P(T<=t) dos colas	0,043*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Los resultados presentados en la prueba t confirman que existe diferencias estadísticas significativas, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento. Por lo tanto se considera que la aplicación de la vacuna influye en la concentración sérica de FSH, LH y testosterona, determinando disminución del diámetro escrotal del t2 inmunoesterilizados de respecto el t3 grupo control.

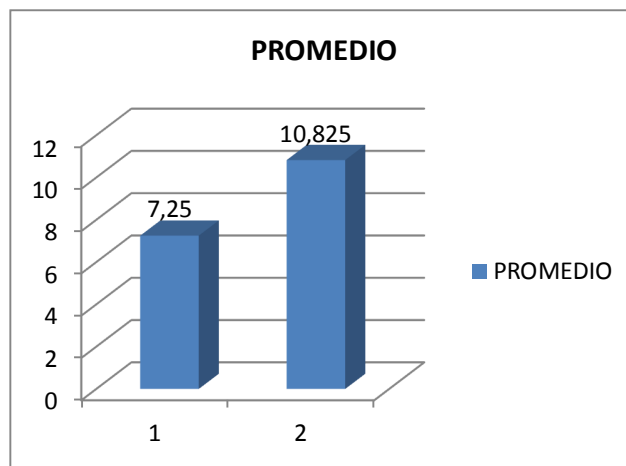
**Tabla N°43: MT LARGO (cm) SEMANA 4**

Unidad Experimental	T2	T3
1	10	11
2	6	10
g3	6,5	11,5
4	6,5	10,8
PROMEDIO	7,25	10,825

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N° 20: PROMEDIO MT. LARGO SEMANA 4**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Con referencia a la tabla 43 y gráfica 20 se observa diferencias numéricas en los promedios entre el t2 y t3.

**Tabla N° 44: T DE STUDENT MT. LARGO (cm) SEMANA 4 (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	7,250	10,825
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-4,046	
P(T<=t) dos colas	0,027*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 44, existe diferencia estadística significativa de acuerdo al valor de p (0,027) (P (T<=t) dos colas), es decir existe interacción entre las variables sobre los grupos t2 y t3.

**Tabla N° 45: Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	7,250	10,825
Varianza	3,417	0,389
Observaciones	4,000	4,000
Coefficiente de correlación de Pearson	0,296	
Diferencia hipotética de las medias	0,000	
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-4,046	
P(T<=t) una cola	0,014	
Valor crítico de t (una cola)	2,353	
P(T<=t) dos colas	0,027*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Los resultados presentados en la prueba t confirman que existe diferencias estadísticas significativas, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento. Por lo tanto se considera que la aplicación de la vacuna influye en la concentración sérica de FSH, LH y testosterona, determinando disminución de la longitud escrotal del t2 inmunoesterilizados de respecto el t3 grupo control.

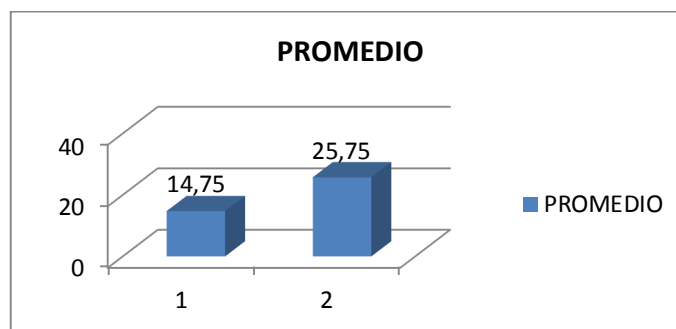
**Tabla N° 46: MT. CONTORNO (cm) SEMANA 5**

Unidad Experimental	T2	T3
1	18	24
2	13	24
3	15	24,3
4	13	30,7
PROMEDIO	14,75	25,75

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N° 21: PROMEDIO MT. CONTORNO SEMANA 5**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra



En relación a la tabla 46 y gráfico 21, se puede determinar que existe diferencia numérica de promedios siendo el t3 el que presenta en mayor diámetro de circunferencia escrotal con un valor de 25,75 cm respecto al t2 14,75 con cm.

**Tabla N°47: T DE STUDENT MT. CONTORNO (cm) SEMANA 5(P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	14,750	25,750
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-4,467	
P(T<=t) dos colas	0,021*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 47, existe diferencia estadística significativa de acuerdo al valor de p (0,021) (P (T<=t) dos colas), es decir existe interacción entre las variables sobre los grupos.

**Tabla N°48: Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	14,750	25,750
Varianza	5,583	10,910
Observaciones	4,000	4,000
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,498	
Diferencia hipotética de las medias	0,000	
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-4,467	
P(T<=t) una cola	0,010	
Valor crítico de t (una cola)	2,353	
P(T<=t) dos colas	0,021*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Los resultados presentados en la prueba t confirman que existe diferencias estadísticas significativas, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento. Por lo tanto se considera que la aplicación de la vacuna influye en la concentración sérica de FSH, LH y testosterona, determinando disminución del diámetro escrotal del t2 inmunoesterilizados de respecto el t3 grupo control.

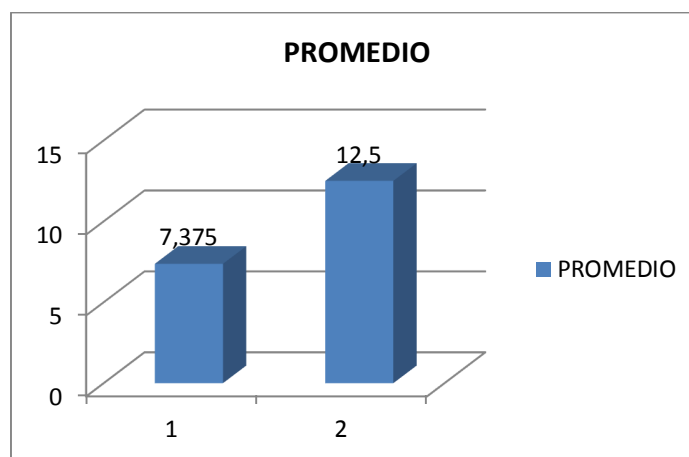
**Tabla N°49: MT.LARGO (cm) SEMANA 5**

Unidad Experimental	T2	T3
1	10,5	13
2	6	12
3	7	12,5
4	6	12,5
PROMEDIO	7,375	12,5

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°22: PROMEDIO MT.LARGO SEMANA 5**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Con referencia a la tabla 49 y gráfica 22 se observa diferencias numéricas en los promedios entre el t2 y t3.

**Tabla N° 50: T DE STUDENT MT.LARGO (cm) SEMANA 5 (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	7,375	12,500
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-5,704	
P(T<=t) dos colas	0,011*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 50, existe diferencia estadística significativa de acuerdo al valor de p (0,011) (P (T<=t) dos colas), es decir existe interacción entre las variables sobre los grupos t2 y t3.

**Tabla N°51: Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	7,375	12,500
Varianza	4,563	0,167
Observaciones	4,000	4,000
Coefficiente de correlación de Pearson	0,860	
Diferencia hipotética de las medias	0,000	
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-5,704	
P(T<=t) una cola	0,005	
Valor crítico de t (una cola)	2,353	
P(T<=t) dos colas	0,011*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Los resultados presentados en a tabla 51, en la prueba t confirman que existe diferencias estadísticas significativas, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento. Por lo tanto se considera que la aplicación de la vacuna influye en la concentración sérica de FSH, LH y testosterona, determinando disminución de la longitud escrotal del t2 inmunosterilizados de respecto el t3 grupo control.

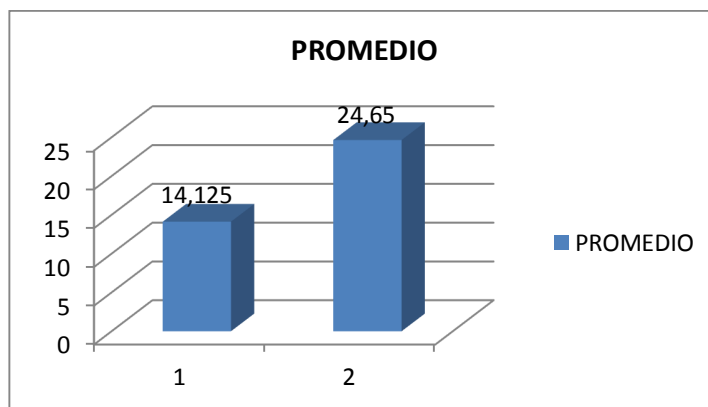
**Tabla N° 52: MT. CONTORNO (cm) SEMANA 6**

Unidad Experimental	T2	T3
1	18	25
2	12	24
3	14	25
4	12,5	24,6
PROMEDIO	14,125	24,65

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N° 23: PROMEDIO MT. CONTORNO SEMANA 6**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

En relación a la tabla 52 y gráfico 23, se puede determinar que existe diferencia numérica de promedios siendo el t3 el que presenta en mayor diámetro de circunferencia escrotal con un valor de 14,12 cm respecto al t2 con 254,65 cm.

**Tabla N°53: T DE STUDENT MT. CONTORNO (cm) SEMANA 6 (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	14,125	24,650
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-8,764	
P(T<=t) dos colas	0,003*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 53, existe diferencia estadística significativa de acuerdo al valor de p (0,003) (P(T<=t) dos colas), es decir existe interacción entre las variables sobre los grupos.

**Tabla N°54: Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	14,125	24,650
Varianza	7,396	0,223
Observaciones	4,000	4,000
Coeficiente de correlación de Pearson	0,720	
Diferencia hipotética de las medias	0,000	
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-8,764	
P(T<=t) una cola	0,002	
Valor crítico de t (una cola)	2,353	
P(T<=t) dos colas	0,003*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Los resultados presentados en la tabla 54, en la prueba t confirman que existe diferencias estadísticas significativas, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento t2 y t3. Por lo tanto se considera que la aplicación de la vacuna influye en la concentración sérica de FSH, LH y testosterona, determinando disminución del diámetro escrotal del t2 inmunosterilizados de respecto el t3 grupo control.

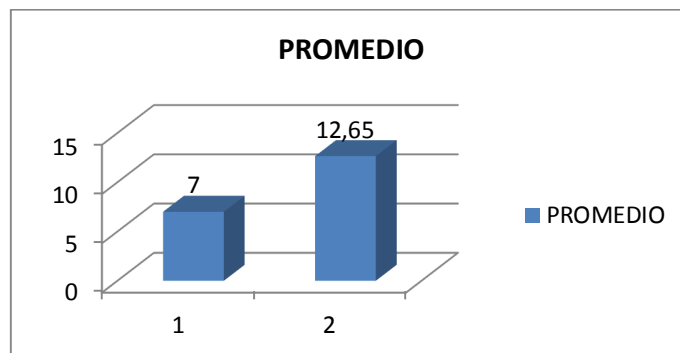
**Tabla N° 55: MT. LARGO (cm) SEMANA 6**

Unidad Experimental	T2	T3
1	10	13
2	5	12
3	7	13
4	6	12,6
PROMEDIO	7	12,65

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N° 24: PROMEDIO MT. LARGO SEMANA 6**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Con referencia a la tabla 55 y gráfico 24 se observa diferencias numéricas en los promedios entre el t2 7 cm y t3 con un valor de 12,65 cm.

**Tabla N° 56: T DE STUDENT MT. LARGO (cm) SEMANA 6 (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	7,000	12,665
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-6,210	
P(T<=t) dos colas	0,008*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 56, existe diferencia estadística significativa de acuerdo al valor de p (0,008) (P (T<=t) dos colas), es decir existe interacción entre las variables sobre los grupos t2 y t3.

**Tabla N°57: Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	7,000	12,665
Varianza	4,667	0,222
Observaciones	4,000	4,000
Coefficiente de correlación de Pearson	0,766	
Diferencia hipotética de las medias	0,000	
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-6,210	
P(T<=t) una cola	0,004	
Valor crítico de t (una cola)	2,353	
P(T<=t) dos colas	0,008*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Los resultados presentados en la prueba t en la tabla 57 confirman que existe diferencias estadísticas significativas, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento. Por lo tanto se considera que la aplicación de la vacuna influye en la concentración sérica de FSH, LH y testosterona, determinando disminución de la longitud escrotal del t2 inmunoesterilizados de respecto el t3 grupo control.

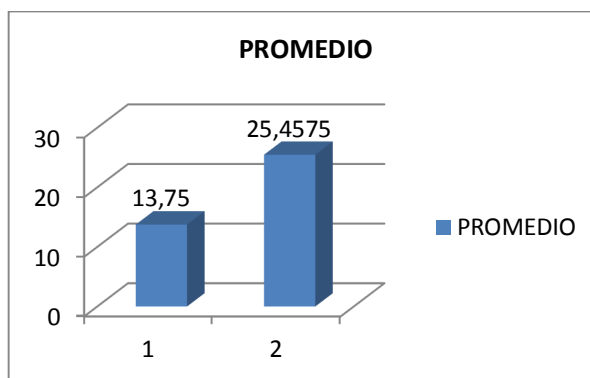
**Tabla N°58: MT.CONTORNO (cm) SEMANA 7**

Unidad Experimental	T2	T3
1	17	26
2	12	25
3	14	25,5
4	12	25,33
PROMEDIO	13,75	25,45

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**GráficoN°25: PROMEDIO MT.CONTORNO SEMANA 7**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra



En relación a la tabla 58 y gráfico 25, se puede determinar que existe diferencia numérica de promedios siendo el t3 el que presenta en mayor diámetro de circunferencia escrotal con un valor de 25,45 cm, respecto al t2 con 13,75 cm.

**Tabla N°59: T DE STUDENT MT.CONTORNO (cm) SEMANA 7 (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	13,750	25,450
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-11,910	
P(T<=t) dos colas	0,001*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 59, existe diferencia estadística significativa de acuerdo al valor de p (0,001) (P (T<=t) dos colas), es decir existe interacción entre las variables sobre los grupos.

**Tabla N°60: Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	13,750	25,450
Varianza	5,583	0,177
Observaciones	4,000	4,000
Coefficiente de correlación de Pearson	0,957	
Diferencia hipotética de las medias	0,000	
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-11,910	
P(T<=t) una cola	0,001	
Valor crítico de t (una cola)	2,353	
P(T<=t) dos colas	0,001*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Los resultados presentados en la prueba t en la tabla 60 confirman que existe diferencias estadísticas significativas, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento. Por lo tanto se considera que la aplicación de la vacuna influye en la concentración sérica de FSH, LH y testosterona, determinando disminución del diámetro escrotal del t2 inmunosterilizados respecto el t3 grupo control. Determinado por la hipoplasia testicular generada.

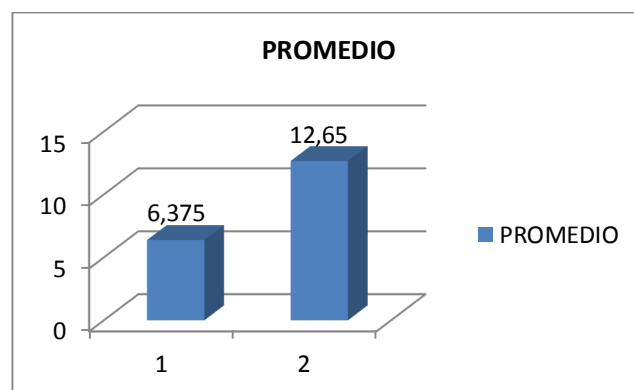
**Tabla N°61: MT.LARGO (cm) SEMANA 7**

Unidad Experimental	T2	T3
1	7,5	12,5
2	5	12,5
3	7	13
4	6	12,6
PROMEDIO	6,375	12,65

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**GráficoN°26: PROMEDIO MT.CONTORNO SEMANA 7**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

.Con referencia a la tabla 61 y gráfico 26 se observa diferencias numéricas en los promedios entre el t2 y t3.

**Tabla N°62: T DE STUDENT MT.LARGO (cm) SEMANA 7 (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	6,375	12,650
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-11,952	
P(T<=t) dos colas	0,001*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede observar en la tabla 62, existe diferencia estadística significativa de acuerdo al valor de p (0,001) (P(T<=t) dos colas), es decir existe interacción entre las variables sobre los grupos.

**Tabla N°63: Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (P<0.05)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	6,375	12,650
Varianza	1,229	0,057
Observaciones	4,000	4,000
Coefficiente de correlación de Pearson	0,347	
Diferencia hipotética de las medias	0,000	
Grados de libertad	3,000	
Estadístico t	-11,952	
P(T<=t) una cola	0,001	
Valor crítico de t (una cola)	2,353	
P(T<=t) dos colas	0,001*	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182	

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Los resultados presentados en la prueba t confirman que existe diferencias estadísticas significativas, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento. Por lo tanto se considera que la aplicación de la vacuna influye en la concentración sérica de FSH, FH y testosterona, determinando disminución de la longitud escrotal del t2 inmunoesterilizados de respecto el t3 grupo control. Determinado por la hipoplasia testicular generada.

### 3.6. *Peso testicular de los tres grupos experimentales t1, t2 y t3*

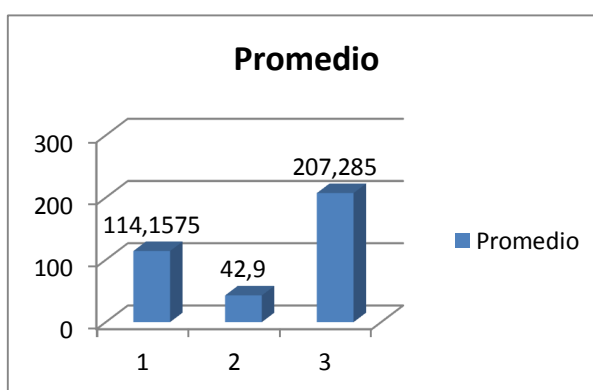
**Tabla N° 64: PESO TOTAL TESTICULAR gr.**

Unidad de tratamiento	T1	T2	T3
1	164,99	24,69	202,39
2	89,65	82,96	188,65
3	186,07	46,21	230,82
4	15,92	17,74	207,28
Promedio	114,1575	42,9	207,285

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Gráfico N°27: PROMEDIO PESO TOTAL TESTICULAR gr.**



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

De acuerdo a la tabla 64 y gráfico 27, esta determina diferencias entre los pesos promedios de los grupos, Se consideran normales estas diferencias, puesto que cada individuo desarrolla la masa testicular y volumen en forma independiente. Sin embargo se encuentran dentro de los parámetros raciales y de edad. Además el efecto nutricional durante la gestación y post parto es directamente proporcional al volumen testicular.

**Tabla N° 65: ADEVA PESO TOTAL TESTICULAR gr.t1, t2y t3 (P<0.05)**

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	54363,72	2	27181,86	11,37	0,0034*
Error	21512,08	9	2390,23		
Total	75875,81	11			
Cv	40,26				

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Como se puede analizar en la tabla 65, existe diferencia estadística significativa de acuerdo al valor de p (0,0034) es decir existe interacción entre las variables y entre los grupos del experimento. Considerándose estas diferencias individuales principalmente por efecto directo en la nutrición gestacional y post gestacional, además relacionado en algunos individuos con el inicio de la pubertad y en otros individuos en los grupos t1,t2 y t3. Sin embargo al finalizar el experimento se determinó que hubo una diferencia significativa entre los grupos, principalmente se determinó una hipoplasia testicular en el grupo t2 atribuible al efecto de la vacuna (inmunoesterilización), contrastada por la diferencia de los pesos mínimos. Esto concuerda con lo que menciona (JONH CRANE,2010)“Al cabo de dos semanas de la segunda dosis, la producción testicular de testosterona se reduce en un 90% o respecto al grupo de cerdos inmuno-castrados que presentaron atresia testicular o lo que es similar a una reducción del tamaño normal del testículo.

### ***3.7 Estudio histológico***

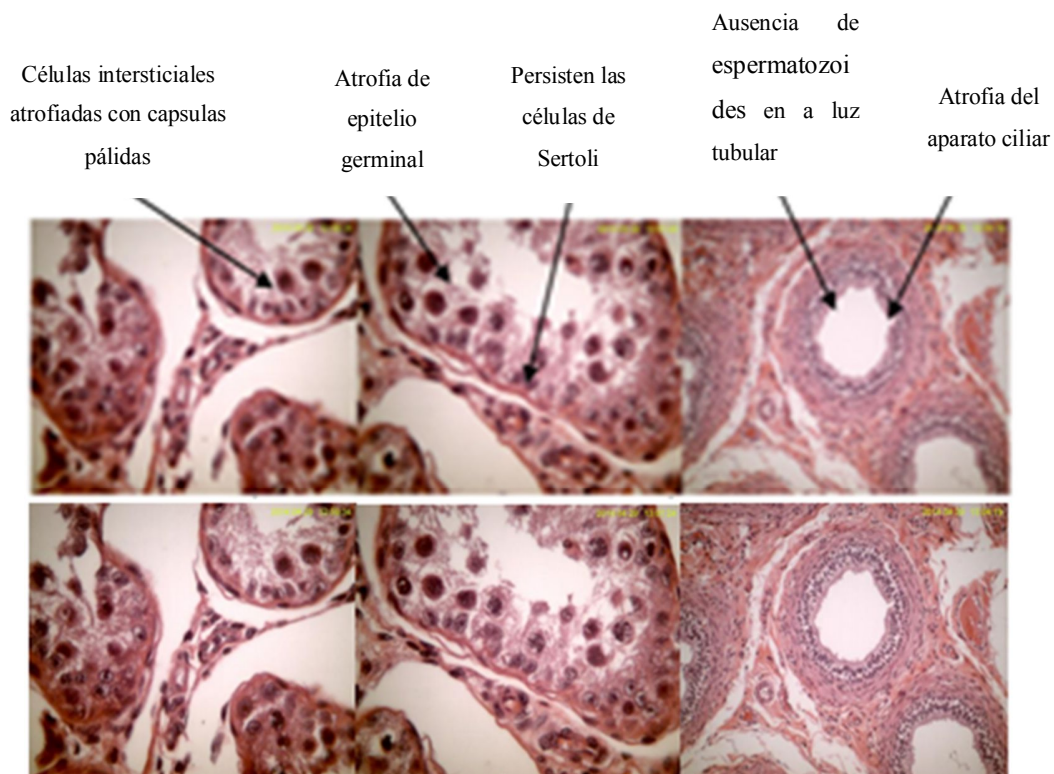
Tras los resultados obtenidos en el presente estudio, y la valoración histológica realizada en colaboración con los Laboratorios de Diagnostico de AGROCALIDAD presentamos a continuación el análisis histopatológico de los testículos de los grupos t1, t2 y t3 correspondiente a los castrados quirúrgicamente, inmuoesterilizados y grupo control o testigo respectivamente.

Con relación a los autores como DICKSON en el año 2005 menciona que el tamaño de los túbulos seminíferos son es de acuerdo a el tamaño de los testículos, mientras que, HUANCA en el año 2014 nos dice que en la pubertad de los ovinos los testículos pesan 550 gr, con un diámetro superior a 30 cm, mientras que los túbulos seminíferos miden a un diámetro de 200 a 300 micras (um.)

Respecto análisis histológico de los grupos del ensayo, a continuación describimos las estructuras y sus rangos en relación a los túbulos seminíferos. En los t1 quirúrgicamente esterilizados se determinó que las estructuras de los túbulos seminíferos presentaron un promedio de diámetro de 144.45  $\mu\text{m}$ . (túbulo diámetro menor 92.910, túbulo del diámetro mayor de 229.319  $\mu\text{m}$ ). En los t3 (testigos), se observa un diámetro de los túbulos seminíferos, con un rango mayor de 263.262  $\mu\text{m}$ . y el menor de 100  $\mu\text{m}$  (promedio de 170  $\mu\text{m}$ ). Con relación a los inmuoesterilizados el diámetro de los túbulos seminíferos es de un promedio de 48,096  $\mu\text{m}$  siendo el de mayor diámetro con 54  $\mu\text{m}$ . y el de menor diámetro de 34.113  $\mu\text{m}$ . La alteración del desarrollo de los testículos con relación a la aplicación de la vacuna anti GnRH se da por la ausencia de la misma. Según ALDANA y otros en el 2011 indica que la gonadotropina es la responsable de instruir a la glándula pituitaria a iniciar la síntesis de la hormona LH y FSH, y que cuando se bloque la síntesis de estas hormonas el crecimiento testicular se interrumpe así como el desarrollo de los túbulos seminíferos.

### 3.7.1. Exámenes histopatológicos ovinos

**Imagen N°1.** Degeneración Testicular Atribuible a falta de secreción de testosterona



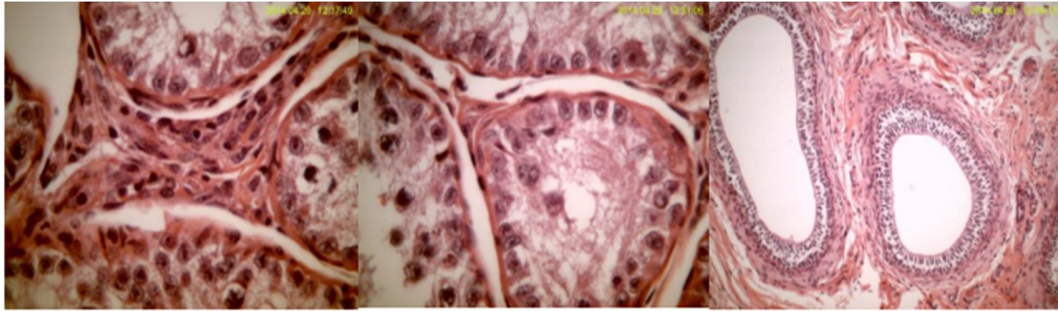
**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Se observan una muestra del testículo, identificable por su estructura macroscópica conservada, donde puede evidenciarse la pubertad del animal por la presencia de células intersticiales. Sin embargo, estas células se muestran atrofiadas y carentes de las típicas gotas citoplasmáticas neutras indicativas de la presencia de depósitos lipídicos, mientras que su citoplasma se muestra ligeramente pálido (fotos de la izquierda). Los túbulos seminíferos evidencian atrofia del epitelio germinal, virtualmente inexistente. Persisten las células de Sertoli, identificables por sus núcleos basales característicos (foto del centro). La muestra incluye segmentos de

epidídimo, en las que se evidencia ausencia de espermatozoides en la luz tubular y atrofia del aparato ciliar (foto de la derecha).

**Imagen N°2.** Degeneración Testicular Atribuible a falta de secreción de testosterona



**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Se observa una muestra de testículo, identificable por su estructura macroscópica conservada, donde puede evidenciarse la pubertad del animal por la presencia de células intersticiales. Sin embargo estas células se muestran atrofiadas y carentes de las típicas gotas citoplasmáticas neutras indicativas de la presencia de depósitos lipídicos mientras que sus citoplasmas se muestran ligeramente pálidos (foto de la izquierda). Los túbulos seminíferos evidencian atrofia del epitelio germinal, virtualmente inexistente. Persisten las células de Sertoli, identificable por su núcleo basal característico (foto del centro). La muestra incluye segmentos de epidídimo, en el que se evidencia ausencia de espermatozoides en la luz tubular y atrofia del aparato ciliar (foto de la derecha). Según Beilli, 2002 señala que la FSH induce a la célula de sertoli a producir proteína ligadora de andrógeno que son de gran importancia para el desarrollo de la espermatogénesis y maduración de los espermatozoides, el número de espermatogonia depende del número de células de sertoli. Al no existir la producción de esta hormona produce muerte de las células germinales y por lo tanto la producción de espermatozoides es muy escaso. Es importante señalar que en las observaciones macroscópicas se evidencio atrofia y endurecimiento testicular, así



como la pérdida de elasticidad escrotal. Las características morfométricas testiculares se redujeron tras la aplicación del tratamiento de inmuno-esterilización comparado con el grupo control. Además las concentraciones hormonales en plasma (LH, FSH y Testosterona) sufrieron una disminución drástica tras el tratamiento de inmuno-esterilización así como en los esterilizados quirúrgicamente. Desde el punto de vista microscópico se observaron cambios morfológicos (atrofia) en células intersticiales, epitelio germinal y aparato ciliar en ambas especies. Además se observó una ausencia de espermatozoides atribuible a una degeneración testicular por déficit hormonal de LH, FSH y Testosterona.

Finalmente, podríamos concluir que existe una funcionalidad similar respecto a los receptores proteicos de GnRH, FSH y LH en las especies ovina comparada con la porcina para la que fue creada la vacuna que se empleó.

### ***3.8 Cuadro de análisis de costo***

**Tabla N° 66: Gastos de la orquiectomía a testículo abierto**

<b>Materiales</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Precio \$</b>
Bisturí	1	0.15
gasas	10	1.00
hilo de sutura	0,25cm	3.00
Jeringuilla	1	0.25
Desinfectante	20ml	1.00
Anestesia	3ml	0.50
Cicatrizante	15ml	1.50
Antibiótico	21ml	6.30
Analgésico	21ml	6.30
<b>TOTAL</b>		<b>20.00</b>

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

**Tabla N° 67: Gastos de inunoesterilización**

<b>Materiales</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Presio \$</b>
Vacuna	6ml	6.00
Geringas	3	0.75
torundas	3	0.10
<b>TOTAL</b>		<b>6.85</b>

**Fuente: Directa**

**Elaborado por:** Terán Sinchiguano Jadira Alexandra

Respecto a las tablas 66 y 67 de análisis de costos, comparando la esterilización quirúrgica versus la inunoesterilización, vemos reflejado que en la inunoesterilización los costos se reducen considerablemente, aproximadamente el 65,75 % del costo de una intervención quirúrgica (castración).

## ***CONCLUSIONES***

- ✓ Con respecto a la aplicación de la vacuna GnRH se considera que existe supresión de la capacidad reproductiva en los ovinos, demostrando una buena alternativa a la castración quirúrgica tradicional.
- ✓ En los valores hormonales analizados de FSH, LH, Testosterona, con respecto a los grupos de los inmunoesterilizados y de animales quirúrgicamente esterilizados se observó disminución en las concentraciones de los valores hormonales comparados con el grupo testigo. Sin embargo el Cortisol, en el grupo quirúrgicamente esterilizado presenta mayores niveles de concentración con respecto a los inmunoesterilizados.
- ✓ Los animales inmunoesterilizados microscópicamente presentaron; hipoplasia testicular caracterizado por atrofia del epitelio germinal evidenciada por la disminución, caracterizado por la concentración de las hormonas FSH, LH y Testosterona, al igual que la reducción del diámetro de los túbulos seminíferos. Se observó características macroscópicas-morfométricas en los animales inmunoesterilizados tales como atrofia y endurecimiento testicular, así como la pérdida de elasticidad escrotal. Teniendo un peso promedio al final los inmunoesterilizados de 42.9 gr. Y los testigos con un peso promedio de 207,285 gr.
- ✓ El costo beneficio comparado entre las dos técnicas de esterilización – quirúrgica, determina que la inmunoesterilización es mucho más económica para el propietario y menos cruenta para el animal. Se reduce aproximadamente el 65,75 % del costo de una intervención quirúrgica (castración).

## ***RECOMENDACIONES***

- Con la técnica de inmueterilización se recomienda aplicar la vacuna GnRH en ovinos una dosis de dos ml, con un intervalo de 21 días.
- Aplicar la vacuna anti GnRH en otras especies animales, con la posibilidad de generar los mismos efectos, como en caninos y felinos domésticos.
- Concluir con las investigaciones para saber si el efecto generado de inmunocatración es reversible o no es reversible.
- se recomienda aplicar la inmunoesterilización ya que en costos resulta más económico con relación a la castración quirúrgica.

## ***Bibliografía***

### **Bibliografía libros citados**

1. **ALDANA, Alfonso y Miguel, Héctor. 2011.** *Producción Pecuaria*. 2. s.l. : Terranova Editores, 2011. ISBN 958 - 9271- 21- 9.
2. **ÁLVAREZ, José. 2003.** *Anatomía comparada básica*. 2. Trillas : MexicoTrillas, 2003. pág. 581. ISBN968- 24- 2965- X.
3. **BACHA, William y BACHA, Linda. 2001.** *Atlas de Histología Veterinaria*. Buenos Aires : Inter-Medica, 2001. 85-7241-439-8.
4. **BAVARESCO, Aura. 1997.** *Las Técnicas de la Investigación: Manual para la elaboración de tesis, monografías, informes*. Maracaibo : s.n., 1997. 980-232-623-2.
5. **BUNGE, Mario. 2008.** *La investigación Científica*. Barcelona España : Ariel, 2008.
6. **CARAVACA, F.P., y otros. 2003.** *BASES DE LA PRODUCCION ANIMAL*. 2003. Sevilla : RC IMPRESORES.S.C.A., 2003. Vol. 1. I.S.B.M.84-472-0764-1\_.
7. **CORONEL, Omar. 2007.** *manual para el manejo de ovinos*. Locabamba : UNICTEL UNI, 2007. pág. 17.
8. **CUÉLLAS, Rodolfo. 2001.** *Anatomía comparada de los animales domésticos*. s.l. : Universidad Autónoma de Aguascalientes, 2001. pág. 330. ISBN 9685073023, 9789685073028.
9. **CUNNINGHAM, James. 2006.** *Fisiología Veterinaria*. Tercera. México : Interamericana, 2006. pág. 150. 968-25-1919-5.
10. **DELLMANN, Horst. 1994.** *Histología Veterinaria*. Madrid : Acribia, 1994. 978-842-0007-55-7.
11. **ESPINOZA, Jorge. 2015.** *Metodos Histologicos*. Tumbaco : Personal, 30 de 05 de 2015.

12. **ESTRADA, Elvira y Uribe, María del Carmen. 2002.** *Atlas de histología Vertebrados.* Mexico : UNAM, 2002. 9683698662, 9789683698667.
13. **FLORES, Rafael. 2001.** *investigacion educativa y pedagogica.* Bogota : McGraw Hill, 2001.
14. **FRADSON, R y Spurgeon, T. 2001.** *Anatomía y Fisiología de los animales domésticos.* [trad.] Victor Octavio Fuentes Hernández. Quinta. Mexico : Interamericana- Mc Graw Hill, 2001. pág. 560. ISBN 9682521270, 9789682521270.
15. **GAZQUEZ, A y BLANCO, A. 2004.** *Tratado de Histologia Veterinaria.* Barcelona : Masson, 2004. 84-458-1413-3.
16. **GAZQUEZ, A y GOMEZ, L. 2009.** *Manual Practico de Histologia Veterinaria.* España : s.n., 2009. 978-84-613-4050-7.
17. **HAFEZ, E. y HAFEZ, B. 2002.** *Reproduccion e Inseminacion Artificial en Animales.* México DF : McGraw - Hill Interamericana, 2002. 970-10-3719-7.
18. **HERNANDEZ, Marco. 2001.** *ENDOCRINOLOGÍA FISIOLÓGIA GENERAL.* Segunda. Quito : Universitariaa, 2001. págs. 139-140-141'144. No tiene ISBN.
19. **HUANCA, L, Wilfredo. 2014.** *“CARACTERÍS SEMINALES Y ENDOCRINAS EN CARNEROS SOMETIDOS ALAISLAMIENTO ESCROTAL.* Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima - Perú : Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2014. págs. 12-13-14-1516-17. 3816/1/Huanca\_lw.pdf.
20. **JAUSET, Jordi. 2000.** *La investigacion de audiencias y fundamentos estadisticos.* Paidos España : s.n., 2000.
21. **JENSH, R y FAWCETT, W. 1999.** *Compendio de Histologia.* Madrid : McGraw-Hill, 1999. 84-486-0264-1.

22. **KONIG, Horst y Liebich, Georg. 2005.** *Anatomía de los animales domésticos Tomo 2.* Buenos Aires : Panamericana, 2005. ISBN 8479037482, 9788479037482.
23. **2005.** *Anatomía de los animales domésticos Tomo 2.* Segunda. Madrid : Medica Panamericana, 2005. págs. 121, 124, 125, 127,128. Vol. 2. ISBN 978 - 84 - 8086 - 366 -7.
24. **2005.** *Anatomía de los animales domésticos Tomo 2.* Segunda. Madrid : Medica Panamericana, 2005. págs. 121, 124, 125. Vol. 2. ISBN 978 - 84 - 8086 - 366 -7.
25. **KÜHNEL, Wolfgang. 2010.** *Atlas Color de Citología e Histología.* [ed.] Alcosser Alberto. 11 edición corregida y aumentada. Madrid : Medica anamericana, 2010. pág. 378. ISBN - 978- 84- 79- 03- 835- 9950- 06- 1256- 9.
26. **LACAVE, Martin y SAN MARTIN, Victoria. 2005.** *Atlas Practico de Veterinaria.* Madrid : Diaz de Santos, 2005. pág. 560. 978-8479-78-670-0.
27. **DICKSON, Luis y Ing. Agron.MSc.Muñoz, Gloria, [ed.]. 2005.** *MANUAL DE PRODUCCIÓN DE CASPRINOS Y OVINOS.* 1. Venezuela : INIA - FONACIT , 2005. pág. 219. ISB 980 - 318 - 191 - 2.
28. **PALMA, Gustavo. 2001.** *Biología de la reproducción.* [ed.] Gustavo Palma German Kaisen. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina : Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 2001. págs. 38- 83. ISBN 978- 43- 3779- 6.
29. **PANIAGUA, Ricardo. 2007.** *Citología e Histologia Vegetal y Animal.* Madrid : McGRAW-HILL, 2007. 978-84-481-5593-3.
30. **PÉREZ, William. 2012.** *Anatomia del Aparato Reproductor del Venado de Campo (Ozotoceros bezoarticus.* Uruguay : FVET, 2012. págs. 54,55. Uy24-15705.
31. **PIMIENIA, Julio. 2012.** *Metodologia de la Investigacion.* Mexico : Pearson, 2012. 978-607-32-1027-0.

32. **POOPER, J. 2007.** *Logica de la investigacion cientifica.* Madrid : Tecnos, 2007.
33. **PTASZYNSKA, Mónica. 2007.** *Compendio de Reproducción Animal. Uruguay.* Uruguay : Intervet, 2007.
34. **REDONDO, Eloy. 2007.** *Atlas práctico de histología veterinaria.* Madrid : s.n., 2007. 978-8477237570.
35. *Reproducción animal.* **REINALDO, Armas. 2014.** Panamá : Universidad de Panamá Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2014. ZOOT 323.
36. **RODRÍGUEZ, Conrado. 2013.** *DESARROLLO REPRODUCTIVO EN CORDEROS IDEAL CRIADOS ARTIFICIALMENTE O CON SU MADRE.* UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA FACULTAD DE VETERINARIA. URUGUAY : UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA FACULTAD DE VETERINARIA, Uruguay,RODRÍGUEZ, Conrado, 2013. págs. 11-12.
37. **URROZ, Carlos. 2001.** *Elementos de Anatomía Y Fisiología Animal.* s.l. : EUNED, 2001. ISBN 9977646023, segunda edición 9789977646022.
38. **VELA, Angel. 2012.** *Efecto de la inmunocastración y castración quirúrgica en los parámetros productivos de cerdos*”. Escuela superior politécnica del Chimbozaso . chimborazo : Spoch, 2012. pág. 28, Tesis. 17T1138.
39. **WELCH, Theresa. 2009.** *CIRUGÍA EN PEQUEÑOS ANIMALES.* [trad.] consultoria Editorial SII traductor editorial. Gea. Español. Barcelona : Copyright MMVII Moshy Inc.an Elsevier, 2009. págs. 715- 716. Vol. 2. ISBN Edición español 978- 84- 8086- 366- 7.



### **Bibliografía citado de internet**

1. **COSMOS. 2012.** Microtomos para cortes en parafina. [En línea] 19 de 07 de 2012. [Citado el: 02 de 02 de 2015.] <http://www.cosmos.com.mx/producto/3d74/microtomos-para-cortes-en-parafina>.
2. **ESPINOSA, Walter. 2011.** EFECTO DE LA ADICION DE UN SURFACTANTE NATURAL (ALOE. *Partes del epididimo*. [En línea] 28 de 10 de 2011. [Citado el: 24 de 03 de 2015.] <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/817/1/T-UTC-1176.pdf>.
3. **GEOFFREY, Rolls. 2011.** Scientia. *Microtomía y preparación de la sección en parafina*. [En línea] 29 de 10 de 2011. [Citado el: 09 de 03 de 2015.] [http://www.leicabiosystems.com/fileadmin/img\\_uploads/histology\\_systems/2010/Microtomy\\_booklet\\_spanish\\_online.pdf](http://www.leicabiosystems.com/fileadmin/img_uploads/histology_systems/2010/Microtomy_booklet_spanish_online.pdf).
4. **GHEZZI, Marcelo, y otros. 2004.** U.N.C.P.B.A. -F.C.V. *Anatomía funcional del aparato genital masculiino*. [En línea] Area de Anatomía de la U.N.C.P.B.A. -F.C.V., 2004. [Citado el: 27 de DICIEMBRE de 2014.] <http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Areas/Documentos/Anatomia%20I%20y%20II/2011/PDF/GENITAL%20MASCULINO%20ANATOMIA%20II.pdf>.
5. **GLOOGLEMAP. 2014.** Gloogle map Ecuador. *Gloogle map latacunga San Buenaventura*. [En línea] 2014. [Citado el: 2015 de 02 de 24.] <http://mapasamerica.dices.net/ecuador/mapa.php?id=2073>.
6. **HISTOTECHNOOOGY. 2010.** Tecnología Médica Mención Morfofisiopatología y Citodiagnóstico. [En línea] 24 de 07 de 2010. [Citado el: 17 de 05 de 2015.] <http://morfoudec.blogspot.com/2008/11/variables-penetracin-fijacin-segn.html>.
7. **IZIDORO, Paulo. 2003.** Fases de metodos. *Metodo experimental*. [En línea] 2003. [Citado el: 24 de 02 de 2015.]

- <http://www.prof2000.pt/users/isis/psique/unidade1/metodos/experimental.html>.
8. **LEICA. 2012.** Precisión de corte: Vibratomo SeriesLeica. [En línea] 12 de 11 de 2012. [Citado el: 07 de 03 de 2015.] <http://www.leicabiosystems.com/es/eventos-y-educacion/noticias/detalles-de-las-noticias/article/cutting-edge-precision-leica-vibratome-series/>.
  9. **MACHA, N, y otros. 2010.** EFECTO DE LA CASTRACIÓN EN TERNEROS; RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS Y CALIDAD DE LA CANAL Y LA CARNE. *Grupo de nutricion, manejo y bienestar animal*. [En línea] PV ALBEITAR 16/2010, 2010. [Citado el: 20 de Enero de 2015.] <http://www.produccion-animal.com.ar>.
  10. **MORALES, Frank. 2014.** Tipos de investigación científica dependiendo del método y de los fines que se persiguen. La investigación, de acuerdo con Sabino (2000). *Ivestigacion descriptivay explicativa*. [En línea] 02 de 05 de 2014. [Citado el: 24 de 02 de 2015.] <http://manuelgross.bligoo.com/conozca-3-tipos-de-investigacion-descriptiva-exploratoria-y-explicativa>.
  11. **PFIZER. 2010.** Pfizer Animal Health Company. *INNOSURE®*. [En línea] 2010. [Citado el: 27 de 01 de 2015.] <http://www.innosure.com.ec/sites/improvac/es-EC/Pages/technicalinformation.aspx>.
  12. **2010.** Pfizer Animal Health Company. *INNOSURE®*. [En línea] 2010. [Citado el: 22 de Enero de 2015.] <http://www.innosure.com.ec/sites/improvac/es-EC/Pages/technicalinformation.aspx>.
  13. **WIKILIBROS. 2015.** Fijadores Histologicos. [En línea] 17 de 03 de 2015. [Citado el: 06 de 04 de 2015.] [https://es.wikibooks.org/wiki/Histolog%C3%ADa/Preparaci%C3%B3n\\_de\\_cortes\\_histol%C3%B3gicos](https://es.wikibooks.org/wiki/Histolog%C3%ADa/Preparaci%C3%B3n_de_cortes_histol%C3%B3gicos).

## *ANEXOS*



**Fotografía N°1.** División de los grupos



**Fotografía N°2.** Extracción de las muestras



**Fotografía N°3.** Muestras para los exámenes hormonales



**Fotografía N°4.** Aplicación de la vacuna GnRH



**Fotografía N°5.** Preparación para la cirugía



**Fotografía N°6.** Esterilización quirúrgica (Tratamiento 1)

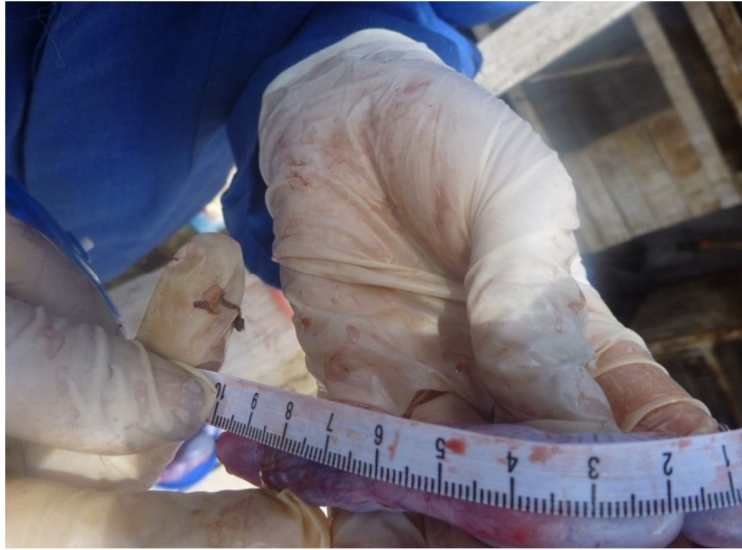




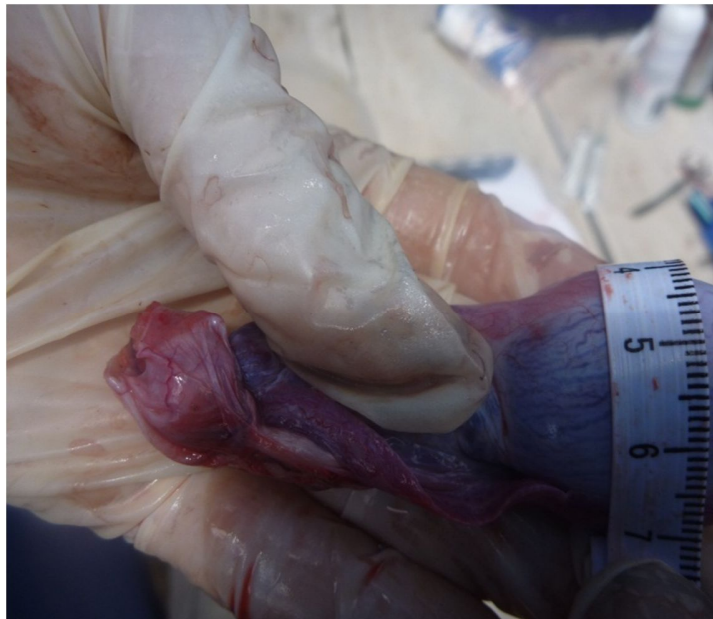
**Fotografía N°7. Morfología testicular**



**Fotografía N°8. Sutura de los ligamentos**



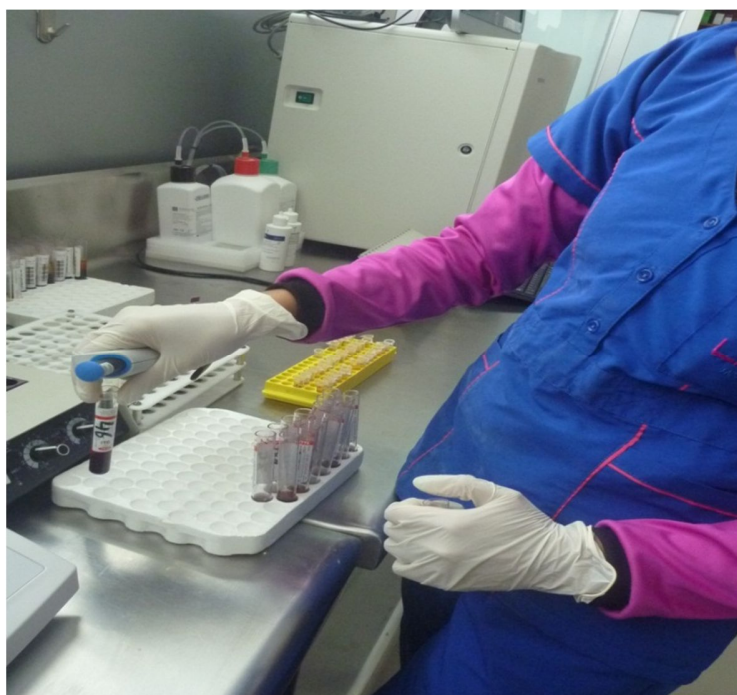
**Fotografía N°9.** Toma de medidas del largo del testículo (Inmunoesterilizado)



**Fotografía N°10.** Toma de medida de la circunferencia (Inmunoesterilizado)



**Fotografía N°11.** Peso de los testículos (inmunoesterilizados)

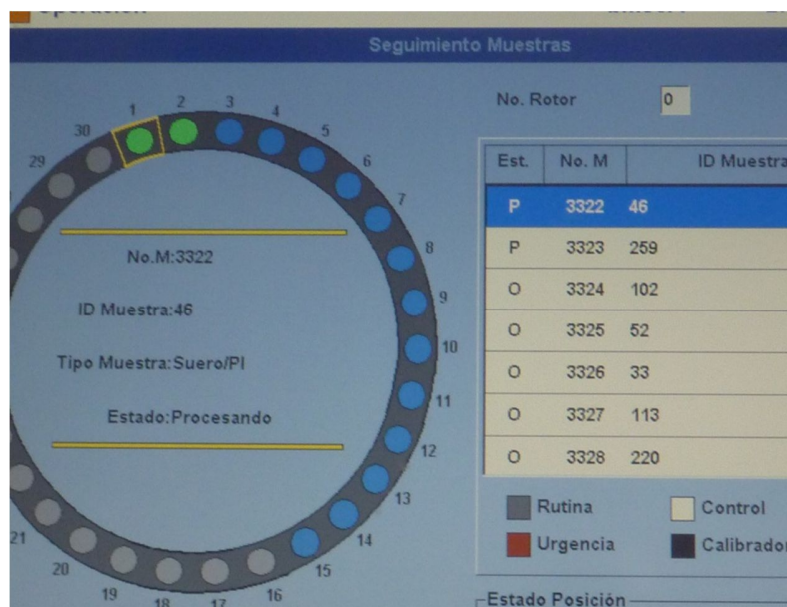


**Fotografía N°12.** Muestras del estudio hormonal (laboratorio LABSAG)





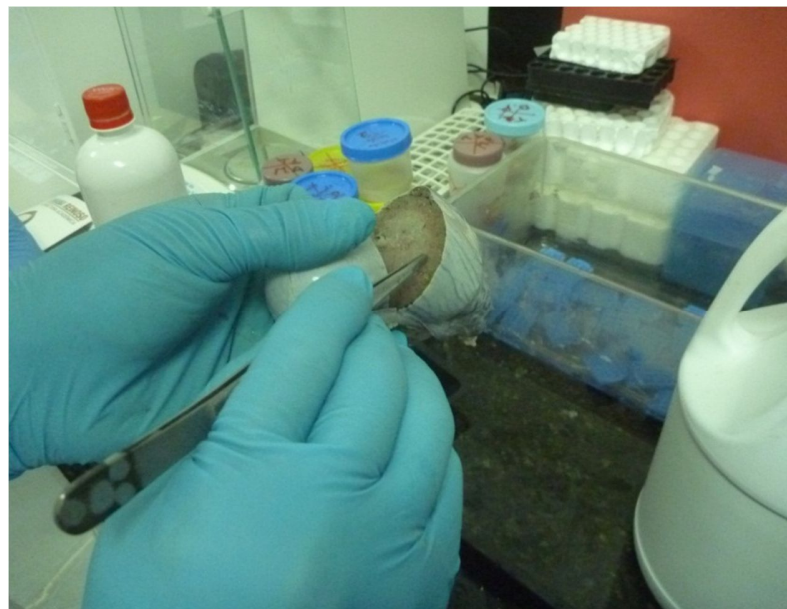
Fotografía N°13. Aplicación del reactivo en sangre (laboratorio LABSAG)



Fotografía N°14. Lectura para las muestras (laboratorio LABSAG)



**Fotografía N°15.** Balanza en gr, Laboratorio (Agro calidad)



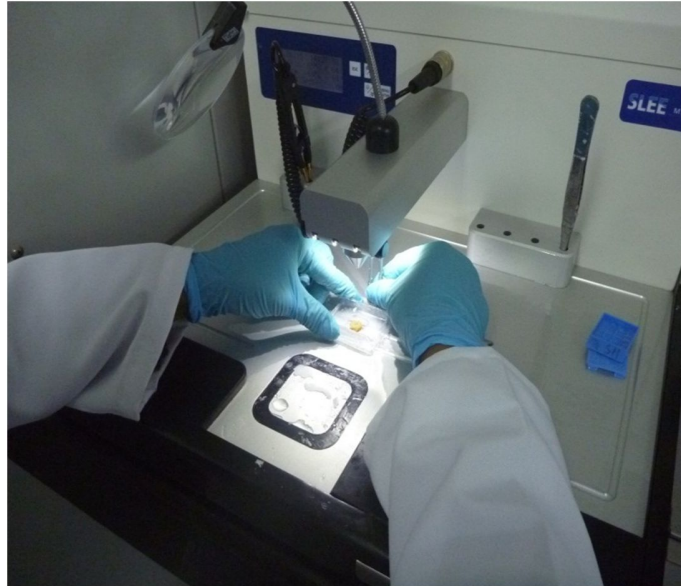
**Fotografía N°16.** Preparación de la muestra histológica Laboratorio (Agro calidad)



Fotografía N°17. Equipo procesador de tejidos Laboratorio (Agro calidad)



Fotografía N°18. Inicio de procesador para los tejidos Laboratorio (Agro calidad)



**Fotografía N°19.** Inclusión parafina (64°C) Laboratorio (Agro calidad)



**Fotografía N°20.** Bloques de parafina con el tejido Laboratorio (Agro calidad)





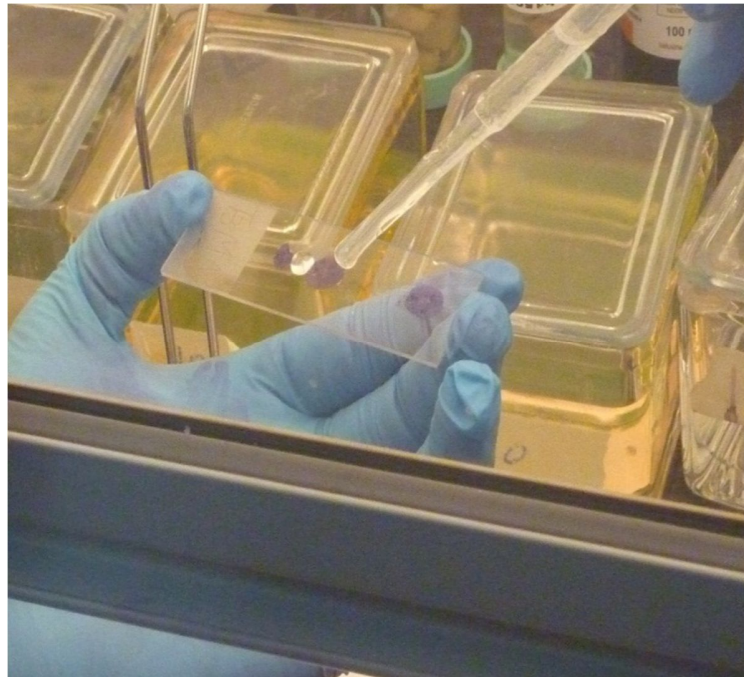
**Fotografía N°21.**Microtomo regulado a 5 um Laboratorio (Agro calidad)



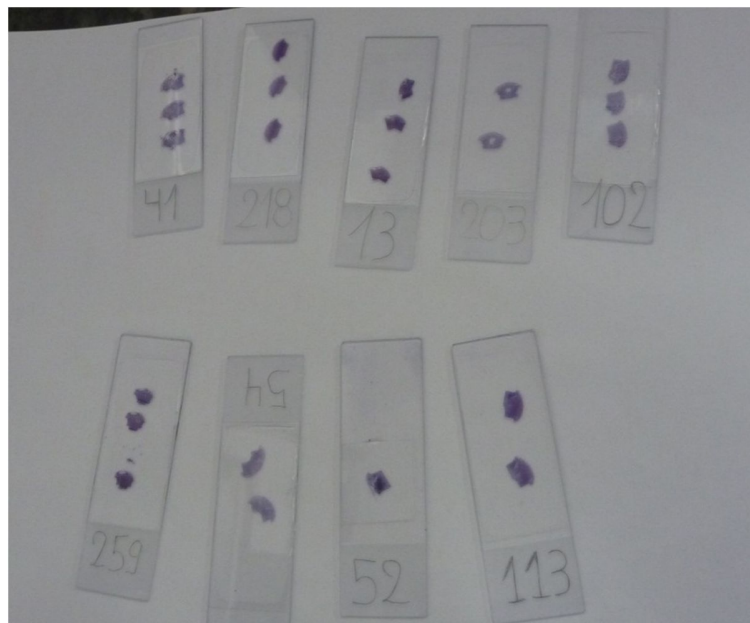
**Fotografía N°22.**Muestra histológica en baño María Laboratorio (Agro calidad)



**Fotografía N°23.**Carrusel de tinción Laboratorio (Agro calidad)



**Fotografía N°24.**Aplicación del Bálsamo de Canadá Laboratorio (Agro calidad)



**Fotografía N°25.**Placas de tejido testicular Laboratorio (Agro calidad)

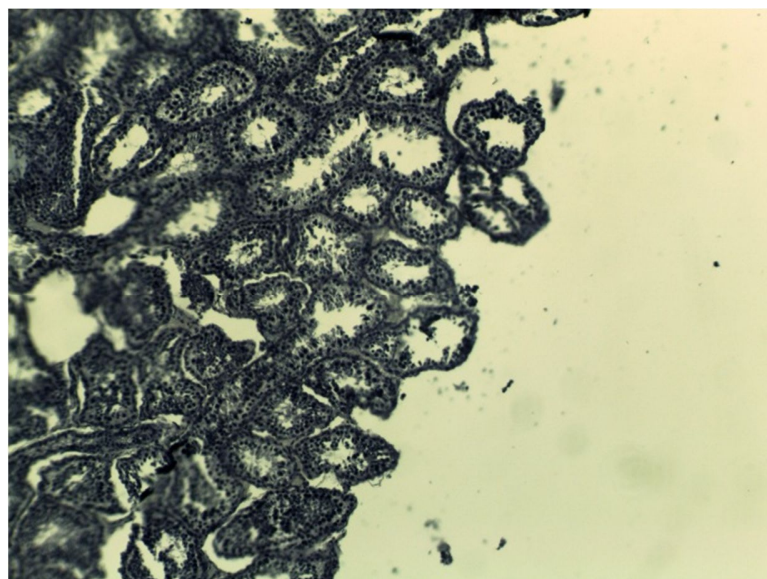


**Fotografía N°26.** Observación de las placas en el microscopio Laboratorio (Agro calidad)



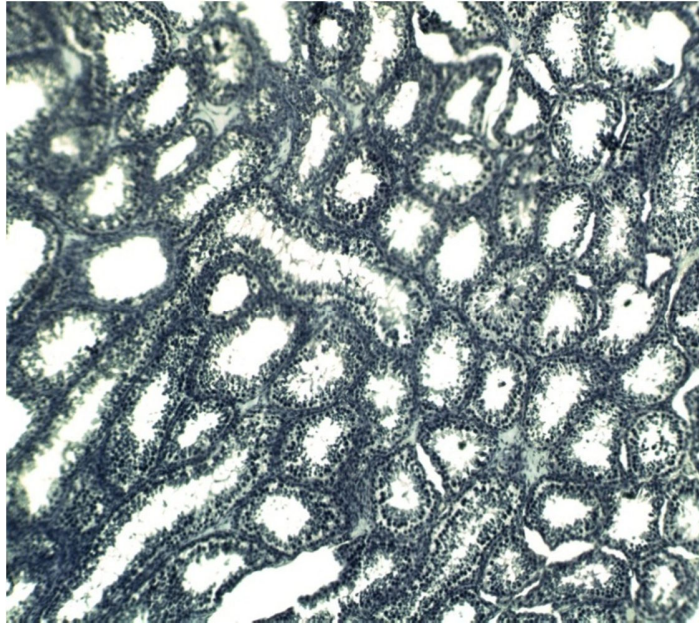


**Fotografía N°27.** Pantalla con la placa de túbulos seminíferos Laboratorio (Agro calidad)

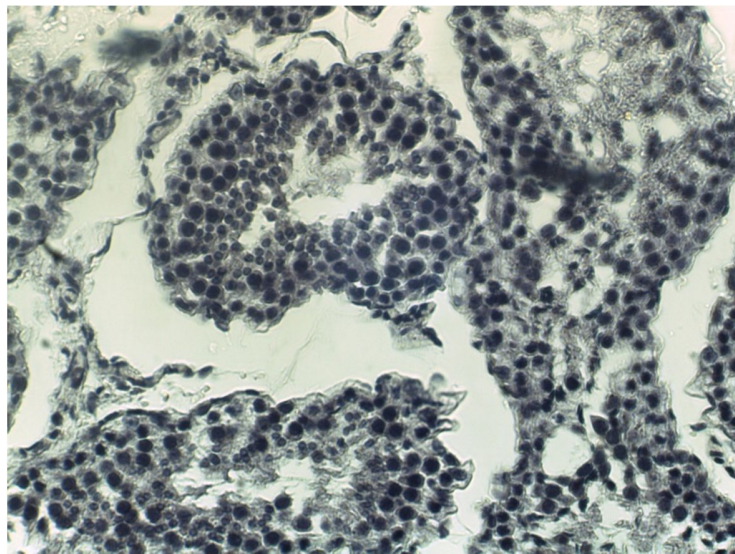


**Fotografía N°28.** Placa histológica del testículo (T1 quirúrgicamente esterilizado33)

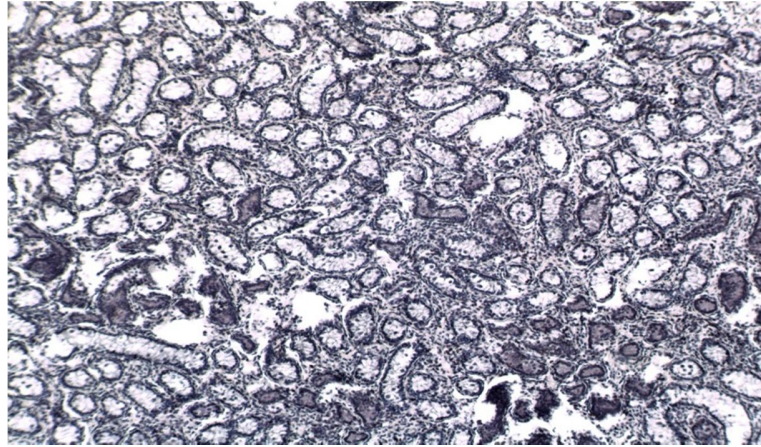




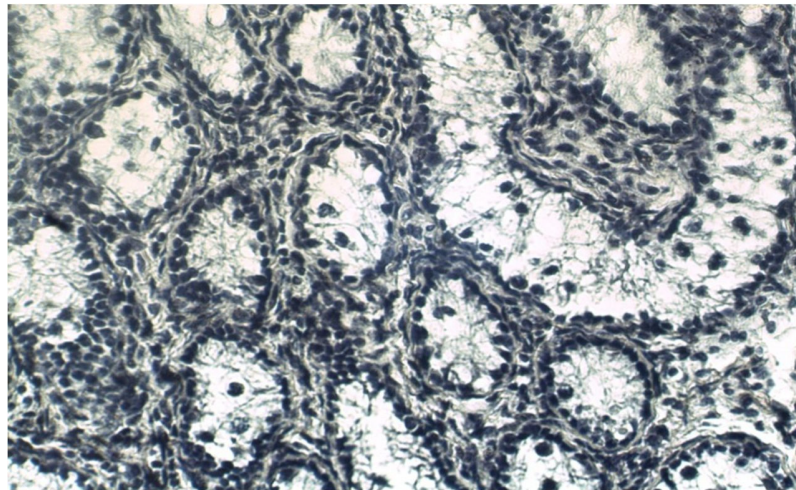
**Fotografía N°29.** Placa histológica del Testigo ( Lente10x)



**Fotografía N°30.** Placa histológica del Testigo( Lente40x)



**Fotografía N°31.** Placa histológica immunoesterilizados ( Lente10x)



**Fotografía N°32.** Placa histológica immunoesterilizado 102 (Lente40X)



**LABSAG**  
LABORATORIOS CLINICOS



## INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas  
Todos los días del Año  
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01  
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944  
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

**DR. Fernando Alay García**

**Orden No.: 7298**

**Nombre: 259**

**Edad:**

**Médico: DR.**

**Procedencia: UTC**

Ingreso: 15/04/2015 11:43:00 Impresión: 22/04/2015 16:09:27

[www.laboratorioclinico-labsag.com](http://www.laboratorioclinico-labsag.com)

## HORMONAS

		VALORES NORMALES
LH:	0,292 mUI/mL	HOMBRES 1,7 - 8,9 mUI/mL MUJERES 2,4 - 12,6 mUI/mL FASE FOLICULAR 14 - 96 mUI/mL FASE OVULATORIA 1,0 - 11,4 mUI/mL FASE LUTEINICA 7,7 - 59 mUI/mL FASE POSTMENOPAUSIA
FSH:	0,100 mUI/mL	HOMBRES 1,5 - 12,4 mUI/mL MUJERES 3,5 - 12,5 mUI/mL FASE FOLICULAR 4,7 - 21,5 mUI/mL FASE OVULATORIA 1,7 - 7,7 mUI/mL FASE LUTEINICA 25,8 - 134,8 mUI/mL FASE POSTMENOPAUSIA
CORTISOL AM:	0,425 ug/dL	
TESTOSTERONA:	0,025 ng/mL	MUJERES 0,06 - 0,82 ng/mL HOMBRES < 1 AÑO 0,12 - 0,21 ng/mL 1 - 6 AÑOS: 0,03 - 0,32 ng/mL 7 - 12 AÑOS: 0,03 - 0,68 ng/mL 13 - 17 AÑOS: 0,28 - 11,1 ng/mL ADULTOS: 2,8 - 8,0 ng/mL

**Método : Electroquimioluminiscencia**

**OBSERVACIONES:** VALOR NORMAL DE CORTISOL: 6,2 - 19,4 ug/dL



Fecha validación: 22/04/2015 16:09:27

**Fotografía N°33. Exámenes hormonales pre experimental del T2**





**LABSAG**  
LABORATORIOS CLÍNICOS



## INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas  
Todos los días del Año  
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01  
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944  
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

**DR. Fernando Alay Garcia**

Orden No.: 8213  
Nombre: 259  
Edad:

Médico: DR.  
Procedencia: UTC

Ingreso: 29/04/2015 18:45:00 Impresión: 30/04/2015 13:47:05

[www.laboratorioclinico-labsag.com](http://www.laboratorioclinico-labsag.com)

## HORMONAS

LH: 0,310 mUI/mL

### VALORES NORMALES

HOMBRES	1,7 - 8,9 mUI/mL
MUJERES	
FASE FOLICULAR	2,4 - 12,6 mUI/mL
FASE OVULATORIA	14 - 96 mUI/mL
FASE LUTEINICA	1,0 - 11,4 mUI/mL
FASE POSTMENOPAUSIA	7,7 - 59 mUI/mL

FSH: 0,100 mUI/mL

HOMBRES	1,5 - 12,4 mUI/mL
MUJERES	
FASE FOLICULAR	3,5 - 12,5 mUI/mL
FASE OVULATORIA	4,7 - 21,5 mUI/mL
FASE LUTEINICA	1,7 - 7,7 mUI/mL
FASE POSTMENOPAUSIA	25,8 - 134,8 mUI/mL

CORTISOL AM: 0,899 ug/dL

Método : Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 30/04/2015 13:47:05

**Fotografía N°34.** Exámenes hormonales mediante la experimentación del T2



**LABSAG**  
LABORATORIOS CLINICOS



## INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas  
Todos los días del Año  
Servicio a Domicilio

Tel: (032) 801 - 343 / 0998543944  
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

**DR. Fernando Alay García**

**Orden No.: 10058**  
**Nombre: 259**  
**Edad:**

**Médico: DR.**  
**Procedencia: UTC**

Ingreso: 29/05/2015 17:37:00 Impresión: 29/05/2015 17:38:22

[www.laboratorioclinico-labsag.com](http://www.laboratorioclinico-labsag.com)

## HORMONAS

TESTOSTERONA: 0,024 ng/mL

### VALORES NORMALES

MUJERES	0,06 - 0,82 ng/mL
HOMBRES	
< 1 AÑO	0,12 - 0,21 ng/mL
1 - 6 AÑOS:	0,03 - 0,32 ng/mL
7 - 12 AÑOS:	0,03 - 0,68 ng/mL
13 - 17 AÑOS:	0,28 - 11,1 ng/mL
ADULTOS:	2,8 - 8,0 ng/mL

**Método : Electroquimiolumiscencia**



**Fecha validación: 29/05/2015 17:38:22**

**Fotografía N°35. Examen hormonal mediante la experimentación del T2**



**LABSAG**  
LABORATORIOS CLINICOS



## INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas  
Todos los días del Año  
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01  
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944  
Marqués de Maenza y Belsario Quevedo

**DR. Fernando Alay Garcia**

Orden No.: 9906  
Nombre: 259  
Edad:

Médico: DR.  
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/05/2015 11:27:00 Impresión: 27/05/2015 12:02:57

[www.laboratorioclinico-labsag.com](http://www.laboratorioclinico-labsag.com)

## HORMONAS

LH: 0,313 mUI/mL

### VALORES NORMALES

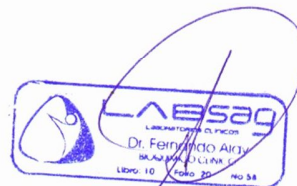
HOMBRES	1,7 - 8,9 mUI/mL
MUJERES	
FASE FOLICULAR	2,4 - 12,6 mUI/mL
FASE OVULATORIA	14 - 96 mUI/mL
FASE LUTEINICA	1,0 - 11,4 mUI/mL
FASE POSTMENOPAUSIA	7,7 - 59 mUI/mL

FSH: 0,79 mUI/mL

HOMBRES	1,5 - 12,4 mUI/mL
MUJERES	
FASE FOLICULAR	3,5 - 12,5 mUI/mL
FASE OVULATORIA	4,7 - 21,5 mUI/mL
FASE LUTEINICA	1,7 - 7,7 mUI/mL
FASE POSTMENOPAUSIA	25,8 - 134,8 mUI/mL

CORTISOL AM: 0,521 ug/dL

Método : Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/05/2015 12:02:57

**Fotografía N°36.** Exámenes hormonales pos experimentación del T2



**LABSAG**  
LABORATORIOS CLINICOS



## INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas  
Todos los días del Año  
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01  
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944  
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

**DR. Fernando Alay García**

Orden No.: 9921  
Nombre: 259  
Edad:

Médico: DR.  
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/05/2015 11:28:00 Impresión: 29/05/2015 17:30:55

[www.laboratorioclinico-labsag.com](http://www.laboratorioclinico-labsag.com)

## HORMONAS

TESTOSTERONA: 0,020 ng/mL

### VALORES NORMALES

MUJERES	0,06 - 0,82 ng/mL
HOMBRES	
< 1 AÑO	0,12 - 0,21 ng/mL
1 - 6 AÑOS:	0,03 - 0,32 ng/mL
7 - 12 AÑOS:	0,03 - 0,68 ng/mL
13 - 17 AÑOS:	0,28 - 11,1 ng/mL
ADULTOS:	2,8 - 8,0 ng/mL

Método : Electroquimiolumiscencia



Fotografía N°37. Exámenes hormonales pos experimentación del T2