



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TRABAJO EXPERIMENTAL

EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE PROGESTERONA EN RECEPTORAS HOLSTEIN FRIESIAN TRANSFERIDAS EN RELACIÓN AL ÍNDICE DE GESTACIÓN

Trabajo Experimental presentado previo a la obtención del Título de Médico Veterinario
Zootecnista

Autor:

Jacqueline Paulina Durán Martínez

Tutor:

Dr. Mg. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

Latacunga – Ecuador

Febrero 2018

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, **Durán Martínez Jacqueline Paulina** declaro ser autor del presente Trabajo Experimental, "**EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE PROGESTERONA EN RECEPTORAS HOLSTEIN FRIESIAN TRANSFERIDAS EN RELACIÓN AL ÍNDICE DE GESTACIÓN**", siendo el **Mg. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso** tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Durán Martínez Jacqueline Paulina

C.I. 1804808481

Mg. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

CI: 0502236623

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte de **DURÁN MARTÍNEZ JACQUELINE PAULINA**, identificada/o con C.C. N°. **1804808481** de estado civil **SOLTERA** y con domicilio en Ambato, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el **Ing. MBA. CRISTIAN FABRICIO TINAJERO JIMÉNEZ**, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LA/EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de **MEDICINA VETERINARIA**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **TRABAJO EXPERIMENTAL** la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Unidad Académica según las características que a continuación se detallan:

Historial académico. – MARZO 2013- MARZO 2018

Aprobación HCA.

Tutor. - **Mg. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso**

Tema: “**EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE PROGESTERONA EN RECEPTORAS HOLSTEIN FRIESIAN TRANSFERIDAS EN RELACION AL INDICE DE GESTACIÓN**”

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA/EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **LA/EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA/EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA/EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA/EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusulas cuartas, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga a los 08 días del mes de diciembre del 2017.

Srta. Ruth Noemí Caluña Tipan

LA CESIONADA

Ing. MBA. Cristian Tinajero Jiménez

EL CESIONARIO

AVAL DEL TUTOR DE TRABAJO EXPERIMENTAL

En calidad de Tutor del Trabajo Experimental sobre el título:

“EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE PROGESTERONA EN RECEPTORAS HOLSTEIN FRIESIAN TRANSFERIDAS EN RELACIÓN AL ÍNDICE DE GESTACIÓN”, de **Durán Martínez Jacqueline Paulina**, de la carrera de Medicina Veterinaria, considero que dicho Informe Experimental cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Proyecto que el Honorable Consejo Académico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Latacunga, Marzo del 2018

.....
Tutor

Mg. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

CC: 0502236623

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Trabajo experimental de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Carrera de Medicina Veterinaria; por cuanto, el postulante **Durán Martínez Jacqueline Paulina** con el título de Proyecto de Investigación: **“EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE PROGESTERONA EN RECEPTORAS HOLSTEIN FRIESIAN TRANSFERIDAS EN RELACIÓN AL ÍNDICE DE GESTACIÓN”** han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de Sustentación de Proyecto.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, Marzo del 2018

Para constancia firman:

Dr. Mg. Luis Alonso Chicaiza Sánchez

CC: 0501308316

MV. Edilberto Chacón Marcheco PhD

CC: 175698569-1

Dr. Mg. Edwin Orlando Pino Panchi

CC: 050229598-3

AGRADECIMIENTO

Porque sin su voluntad no lograríamos nada en la vida agradezco a Dios todopoderoso por darme la sabiduría, y las fuerzas necesarias durante toda mi vida estudiantil.

Al Alma Mater Mi querida Universidad Técnica de Cotopaxi por abrirme sus aulas y permitirme culminar con mi meta tan anhelada de convertirme en Médico Veterinario Zootecnista formándome como ser humano y profesional.

A mis Profesores que han sabido guiarme e instruirme, compartiendo no solo sus valiosos conocimientos sino también valores y ética

Al Doctor Eduardo Escibano, por su valioso aporte durante toda la elaboración de mi trabajo de titulación por compartir desinteresadamente sus conocimientos y colaborar conmigo en la fase experimental del mismo expresando así su alto espíritu de generosidad y humildad a pesar de ser un excelente Profesional.

A mi tutor Dr. Miguel Gutiérrez por su guía tutoría y tiempo invertido en el presente trabajo y como docente en las aulas, por brindarnos la confianza de participar en sus proyectos de investigación nutriendo así mis conocimientos prácticos y teóricos

A mis amigos Francis y Enrique hermanos de corazón.

Dios les Pague

Paulina

DEDICATORIA

Con todo mi esfuerzo amor a mi Madre Piedad quien ha sido la lumbre de mi vida el motivo de superación y por quien me levanto todos los días para llenarla de orgullo el merito siempre será tuyo

A mis hermanos quien me han extendido su mano y no me han dejado decaer en momentos difíciles de esta etapa de vida por estar conmigo en buenas y malas y apoyarme emocional y económicamente.

A ti Mi amor, compañero de vida y apoyo incondicional

RESUMEN

En la transferencia de embriones bovinos, se reconocen varias etapas que se inician con la hembra donadora y se termina con las receptoras. Los estudios enfocan la receptora y su influencia sobre el porcentaje de preñez, relacionándola con la raza, edad, estado sanitario, nivel nutricional y productivo. Sin embargo, el cuerpo lúteo (C.L.) funcional, depende de las señales luteotróficas y antiluteolíticas del embrión. El objetivo del presente estudio fue evaluar la tasa de gestación en receptoras transferidas embriones y su relación con los niveles de progesterona plasmática. Para el experimento se emplearon 12 receptoras de la raza Holstein Friesian que fueron sincronizadas utilizando un protocolo de IATF, las receptoras fueron transferidas embriones frescos mórulas grado1 al día 7 post detección del celo. Se recolectaron muestras de sangre entera para determinar los niveles plasmáticos de progesterona (P4) al día 7, 14 y 21 post transferencia, y el diagnóstico de gestación se realizó al día 25 y 35 con ultrasonido Aloka SSD5. Para el análisis estadístico se empleó la prueba de t de Student. . Se determinó que la tasa de gestación en receptoras transferidas embriones al día 7 se relaciona directamente con los niveles de progesterona plasmática y la calidad embrionaria. Los niveles de progesterona plasmática en receptoras de embriones al día 7,14 y 21 determinaron valores medios que se corresponden con la supervivencia embrionaria en el lumen uterino; además, la tasa de gestación de las receptoras presentó variabilidad entre el día 25 y 35, por cuanto se determinó un alto porcentaje de muerte embrionaria. Por tanto se concluye que los niveles de concentración plasmática de progesterona inciden directamente en el índice de gestación, y aun no está definida la concentración de progesterona (P4) necesaria para que un embrión sobreviva durante la tercera semana post-implante.

Palabras Clave: Receptora, embrión bovino mórula, progesterona, gestación

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

**TITLE: EVALUATION OF PROGESTERONE LEVELS IN HOLSTEIN FRIESIAN
RECEPTOR COWS TRANSFERRED TO THE GESTATIONAL INDEX.**

AUTHOR: DURÁN MARTÍNEZ JACQUELINE PAULINA

ABSTRACT

In the change of bovine embryos, several stages are recognized that begin with the donor female and ends with the receptor cows. The studies focus on the recipient and its influence on the percentage of pregnancy, relating it to race, age, health status, nutritional and productive level. However, the functional corpus luteum (C.L.) depends on the luteotrophic and antiluteolytic signals of the embryos. The objective of the present study was to evaluate the gestation rate in recipient embryos transferred and their relationship with plasma progesterone levels. For the experiment, 12 recipients of the Holstein Friesian breed were used, which were synchronized using an IATF protocol; the recipients were transferred fresh embryos grade 1 morulas on day 7 after heat detection. Whole blood samples were collected to determine the plasma levels of progesterone (P4) at day 7, 14 and 21 post transfer, and the diagnosis of pregnancy was made on day 25 and 35 with Aloka SSD5 ultrasound. For the statistical analysis, the Student's t test was used. . It was determined that the gestation rate in recipients transferred embryos on day 7 is directly related to plasma progesterone levels and embryo quality. Plasma progesterone levels in embryo recipients at day 7, 14 and 21 determined mean values that correspond to embryonic survival in the uterine lumen; in addition, the gestation rate of the recipients showed variability between day 25 and 35, since a high percentage of embryonic death was determined. Therefore it is concluded that plasma progesterone concentration levels directly affect the gestation index, and the progesterone concentration (P4) necessary for an embryo to survive during the third week post-implant is not yet defined

Keywords: Receptor, Embryo, Progesterone Gestation

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|--|------|
| ÍNDICE DE PRELIMINARES | |
| DECLARACIÓN DE AUTORÍA | ii |
| CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR..... | iii |
| AVAL DEL TUTOR DE TRABAJO EXPERIMENTAL | vi |
| APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN..... | vii |
| AGRADECIMIENTO | viii |
| DEDICATORIA | ix |
| | ix |
| RESUMEN | x |
| ABSTRACT | xi |
| ÍNDICE DE CONTENIDOS | xii |
| 1. INFORMACIÓN GENERAL | 1 |
| 2. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 3. OBJETIVOS | 2 |
| 4. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA..... | 2 |
| 4.1. La producción Bovina en el Ecuador | 2 |
| 4.2 Fisiología reproductiva de la hembra Bovina. | 3 |
| 4.3 Aparato genital de la hembra..... | 4 |
| 4.4 Fisiología reproductiva | 5 |
| 4.5 Funciones principales de las hormonas que intervienen en la reproducción | 5 |
| 4.6 Ciclo estral de la Hembra | 5 |
| 4.6.1 Proestro | 6 |
| 4.6.2 Estro..... | 6 |
| 4.6.3 Metaestro..... | 7 |
| 4.6.4 Diestro | 7 |
| 4.7 Selección de receptoras..... | 7 |
| 4.8 Hormona Progesterona (P4) | 8 |
| 4.9 Desarrollo embrionario | 9 |
| 4.10 Transferencia embrionaria..... | 11 |
| 4.11 Prueba de Elisa | 12 |

| | |
|--|----|
| 5. VALIDACIÓN DE HIPÓTESIS:..... | 12 |
| Hipótesis alternativa | 12 |
| 6. MATERIALES | 13 |
| 7. PROCEDIMIENTO/MÉTODO: | 14 |
| 7.1 Selección de vacas receptoras..... | 14 |
| 7.2 Sincronización de donadoras | 14 |
| 7.3 Extracción de embriones de las donadoras | 15 |
| 7.4 Visualización, calificación, y valoración de los embriones obtenidos..... | 15 |
| 7.5 Extracción y Transferencia de embriones..... | 16 |
| 7.6 Toma de muestras de sangre obtenidas de las donadoras y receptoras en diferentes días por tres semanas consecutivas..... | 16 |
| 7.7Análisis de progesterona. | 16 |
| 7.8Análisis estadístico mediante prueba T de student para muestras emparentadas | 17 |
| 8. ANÁLISIS DE RESULTADOS..... | 18 |
| 8.1Embriones obtenidos | 19 |
| 8.2.DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS | 29 |
| 9. CONCLUSIONES | 32 |
| 10. RECOMENDACIONES..... | 32 |
| 11. BIBLIOGRAFÍA..... | 33 |
| 11.ANEXOS | 36 |
| a.Selección, preparación y aplicación de protocolo a vacas receptoras..... | 36 |
| b.Lavado y extracción de embriones | 36 |
| c.Visualización y Valoración de embriones viables grado 1 | 38 |
| d.Transferencia de embriones | 39 |
| e.Toma de muestras..... | 39 |
| f. Parto de receptores que llegaron a término de gestación..... | 40 |
| AVAL DE TRADUCCIÓN | 42 |

| | |
|---|----|
| TABLA N° 1 Niveles de progesterona plasmática en receptoras de embriones/ grado y estadios de desarrollo embrionario/diagnóstico de gestación | 20 |
| TABLA N° 2. Niveles de progesterona plasmática / porcentaje de gestación/muerte embrionaria | 21 |
| TABLA N° 3. Niveles de progesterona día 1 vs. Día 7 | 24 |
| TABLA N° 4. Niveles de progesterona día 7 vs. Día 14 | 25 |
| TABLA N° 5. Niveles de progesterona día 1 vs. Día 7 | 26 |
| TABLA N° 6. Niveles de progesterona día 1 vs. Día 21 | 27 |
| TABLA N° 7. Niveles de concentración de progesterona en receptoras transferias embriones con diagnóstico de no gestantes y con muerte embrionaria | 28 |
| | |
| FIGURA N° 1. Porcentaje de gestación | 22 |
| FIGURA N° 2. Niveles de Concentración de Progesterona Plasmática (ng/ml) pre y post Transferencia de Embriones- días 1,7,14 y 21 | 23 |

1. INFORMACIÓN GENERAL

Tema del Trabajo Experimental:

EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE PROGESTERONA EN RECEPTORAS HOLSTEIN FRIESIAN TRANSFERIDAS EN RELACIÓN AL ÍNDICE DE GESTACIÓN

2. INTRODUCCIÓN

El principal uso de la transferencia de embriones en el ganado ha sido amplificar las tasas de reproducción de las hembras valiosas. Debido a las bajas tasas de reproducción y los largos intervalos de generación, la transferencia de embriones es especialmente útil en esta especie. El ganado puede ser valioso por muchas razones, incluida la escasez, el valor genético demostrado o tener características únicas, como resistencia a enfermedades. Idealmente, la transferencia de embriones se utiliza para satisfacer objetivos tanto genéticos como financieros simultáneamente, es decir, la producción de leche o carne aumenta o aumenta la eficiencia, y la inversión también genera beneficios financieros. Es posible aumentar las tasas reproductivas de vacas valiosas en un promedio de diez veces o más en un año dado y cinco veces o más por vida con las técnicas actuales de transferencia de embriones. Esta amplificación aumentará sustancialmente a medida que las nuevas tecnologías, *in vitro*, se perfeccionan. (Seidel & Moore, 2010)

En Sudamérica países como Panamá y Uruguay tuvieron un aporte importante en este continente con una participación mundial de 1 % y 0,32 % correspondiente a 2.905 y 850 embriones producidos respectivamente. Argentina no mostro altas cifras en este mercado con 292 embriones producidos *in vitro*. (Fernandez & Ruiz, 2016)

El mejoramiento genético del ganado local es una de las aristas que consideran productores y Gobierno a la hora de corregir los inconvenientes de la cadena de lácteos y de carne en el país, por lo que se hace necesaria la investigación e implantación de nuevas tecnologías como es la transferencia embrionaria el monitoreo de la gestación hasta llegar al nacimiento de la

cría con esto conseguir una alta producción de leche por animal para así satisfacer las necesidades de los consumidores.

Por otro lado los factores determinantes en la supervivencia de las especies animales y en particular en la especie bovina en relación a la sobrevivencia embrionaria, implantación y mantención de la gestación en el útero del bovino está influenciado por el ambiente uterino, así los elementos negativos es el índice de gestación bajo, que disminuye la eficiencia reproductiva en los programas de transferencia de embriones en las receptoras por lo tanto en el presente trabajo experimental se evaluó los niveles de progesterona en receptoras Holstein Friesian transferidas en relación al índice de gestación con el objetivo de aportar a la investigación y por ende al ganadero del país en el desarrollo de biotecnologías.

3. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluación de la tasa de gestación en vacas receptoras transferidas y su relación con los niveles de progesterona plasmática.

Objetivos específicos

Determinar los niveles de progesterona plasmática en vacas receptoras de embriones al día 7, 14, 21 y 28 post transferencia.

Evaluar la tasa de gestación de las receptoras al día 35, post transferencia del embrión.

Correlacionar los niveles de concentración de progesterona en relación al índice de gestación.

4. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

4.1. La producción Bovina en el Ecuador

La ganadería bovina es una actividad económica del sector primario encargada del cuidado y domesticación de reses (vacas, toros y crías) para el consumo humano. Asimismo, se

denomina ganadería al conjunto de instalaciones para explotación ganadera o al hato ganadero de un propietario. (Sánchez, 2017)

Al igual que la agricultura, la ganadería es una de las actividades que practica el hombre desde tiempos remotos, para asegurar su necesidad de alimento, cuero, huesos, entre otras.

Es destacada la participación que tiene la ganadería bovina en el Ecuador con relación a los demás tipos de ganadería y a su ocupación territorial de los espacios rurales. Al año 2013, la ganadería bovina representa el mayor número de cabezas de ganado en 23 de las 24 provincias del Ecuador, siendo una excepción la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas donde el ganado porcino supera al bovino. Igualmente, hay que destacar que la mayor superficie agropecuaria en el país se utiliza en pastos cultivados o naturales, que emplean 4.8 millones de hectáreas, equivalentes al 66.3% del número total de hectáreas en uso agropecuario (7.3 millones de hectáreas). Esta superficie en pastizales sirve para albergar a 5.1 millones de reses, a una razón de 1.06 hectáreas por animal. (Zambrano R. , 2015)

Una baja fertilidad en el hato lechero representa un costo considerable para los productores y puede deberse a una gestación retrasada provocada por la pérdida embrionaria temprana. (Gordon, 2004).

4.2 Fisiología reproductiva de la hembra Bovina.

El funcionamiento del aparato reproductor depende de una serie de sustancias producidas en el Sistema Nervioso Central del animal que viajan por vía sanguínea para producir su efecto sobre los ovarios y el útero y se denominan hormonas. Los ovarios, a su vez, en respuesta a estas hormonas, producen otras sustancias que actuarán sobre el útero, sobre otros tejidos y sobre el mismo Sistema Nervioso Central, en el cerebro, el hipotálamo produce la Hormona Liberadora de Gonadotrofinas (GNRH) que actúa sobre la hipófisis para que esta libere las hormonas Folículoestimulante (FSH) y Luteinizante (LH) La FSH actúa sobre el ovario, provocando el crecimiento de folículos y la secreción de Estrógenos y otras sustancias. (Correa, 2015).

Cuando la producción de Estrógenos alcanza altos niveles, se producen en la vaca cambios de conducta que conllevan a que la hembra acepte la monta, lo que se denomina celo. Hacia el final del celo, la LH actúa sobre el ovario, provocando la ovulación del folículo maduro y la formación del Cuerpo Lúteo, el cual produce Progesterona, hormona responsable de preparar al útero para recibir al embrión, en caso de que la vaca sea servida y ocurra la fecundación, si no hay servicio o no hay fecundación, el útero produce Prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}), que tiene efecto luteolítico y provoca la regresión del cuerpo lúteo y disminuye la producción de progesterona, todo esto ocurre de manera cíclica. Cada vez que disminuye la producción de progesterona, el hipotálamo comienza a liberar GNRH, y ocurren nuevamente el crecimiento de folículos y las manifestaciones de celo. La serie de eventos que ocurren entre un celo o estro y el siguiente se denominan Ciclo Estral, que tiene una duración aproximada de 21 días. (Márquez J. , 2015).

4.3 Aparato genital de la hembra

El aparato genital de la hembra bovina formado por los ovarios y un sistema de órganos tubulares: oviducto, útero y vagina. La parte posterior del tracto sexual, vestíbulo vaginal y vulva, representan conductos comunes de los sistemas genitales y urinario, por lo que se denominan urogenitales. (Robson, 2004)

El conocimiento y reconocimiento de la anatomía y fisiología de la hembra bovina se hace indispensable para la aplicación de biotecnologías como la inseminación artificial (IA) entre otras, todo esto con el fin de manipular hormonalmente el ciclo estral, para realizar sincronización para una posterior transferencia de embriones (TE). (Cardona, 2013).

El aparato reproductivo de la vaca es muy complejo; no solo produce el óvulo o célula sexual femenina, sino que también facilita el crecimiento y alimentación del feto en desarrollo, para luego, durante el parto expulsar el feto completamente desarrollado. Los órganos reproductores femeninos, como los del macho, están controlados por un complicado sistema endocrino. (Yanguma, 2009).

4.4 Fisiología reproductiva

El hipotálamo y la hipófisis son estructuras que no solo se comportan como productoras de hormonas, estando estrechamente unidas a la parte ventral del cerebro y ambas se comportan sino como órganos blanco, creando un sistema de rebote homeostático, las hormonas son sustancias químicas catalizadoras, producidas en una glándula de secreción interna, con actividad en receptores específicos especializados, que son sintetizadas por glándulas endocrinas y vertidas directamente a la sangre para ejercer su actividad en órganos donde regula o coordina funciones corporales denominado Órgano Efecto u Órgano Blanco. (Rivera, 2015)

4.5 Funciones principales de las hormonas que intervienen en la reproducción.

Hormona Folículo estimulante (FSH), su origen se da en la Adenohipófisis y se encarga del desarrollo del folículo y secreción de la hormona estrogénica en hembras.

Luteinizante (LH), tiene como origen la Adenohipófisis y su función es la Ovulación y formación del cuerpo lúteo en hembras.

Oxitocina se origina en la Neurohipófisis se encarga de Contracciones uterinas en el parto y excreción de la leche.

Progesterona su origen es Cuerpo Lúteo tiene como función Preparación endometrial ovárica del útero para implantación del embrión y el mantenimiento de preñez. Desarrollo de la glándula mamaria. (Salazar, 2009)

4.6 Ciclo estral de la Hembra

Los signos de estro o celo ocurren gracias a la presencia de estos estrógenos provenientes del folículo. La duración de celo es muy variable, pero se considera que 16 ± 4 horas es el tiempo promedio. Los estrógenos incrementan, además, las contracciones del tracto reproductivo facilitando el transporte del espermatozoides y del ovulo; y afectan también a centros endocrinos en

el hipotálamo que controlan la liberación de GnRH del hipotálamo y ésta, a su vez, la liberación de FSH y LH de la adenohipófisis. El incremento de LH se inicia después de que se hayan iniciado los signos de celo e inicia el proceso de ovulación. (Moller, 2014)

4.6.1 Proestro

Es la fase que precede al celo. Se caracteriza por un incremento marcado de la actividad del sistema reproductivo. Hay incremento folicular y regresión del cuerpo lúteo del ciclo previo. El útero aumenta de tamaño, el endometrio está congestionado, edematoso y sus glándulas presentan abundante actividad secretora. La mucosa vaginal esta hiperémica, el número de capas celulares que forman su epitelio se incrementa, estando cornificadas las más superiores. Su duración es de 3 a 4 días. (Intervet, 2014)

4.6.2 Estro

Es la fase del ciclo que se caracteriza por los niveles más altos de estradiol (que se vienen incrementando desde el Proestro), y que ahora son secretados en mayor cantidad por el Folículo que se ha hecho Dominante. Esta hormona se encarga de la aparición de los signos del celo o calor: como aparición de moco, receptividad sexual del macho, inquietud, vulva hiperémica, monta y se deja montar, el Estradiol también estimula la liberación de la LH; y el aumento creciente de esta hormona hasta alcanzar un pico que desencadena la ovulación (del folículo dominante), se ve favorecido por las bajas concentraciones existentes de Progesterona (P4) en esta fase del ciclo, a causa de un cuerpo lúteo que se ha destruido (luteólisis) en la fase anterior (Diestro) con lo que dejó de producirla. Al estar disminuida la Progesterona (P4), ésta no ejerce una inhibición sobre la GnRh (que es lo que normalmente haría) y así el Estradiol (E2) puede estimular libremente su producción, pero especialmente de la LH, ya que la FSH comienza a ser inhibida por la Inhibina (con el fin de que no crezcan más folículos). (Alzate, 2017)

Tiene una duración de 12 a 24 horas.

Hormonas predominantes: Estradiol y LH.

Hormonas que están bajas: Progesterona (P4).

4.6.3 Metaestro

Es la etapa posterior al estro y tiene una duración de 4-5 días. Durante esta etapa ocurre la ovulación y se desarrolla el cuerpo lúteo. Después de la ovulación se observa una depresión en el lugar ocupado por el folículo ovulatorio (depresión ovulatoria) y posteriormente aparece el cuerpo hemorrágico, el cual es el cuerpo lúteo en proceso de formación, durante el metaestro, las concentraciones de progesterona comienzan a incrementarse hasta alcanzar niveles mayores de 1 ng/ml, momento a partir del cual se considera que el cuerpo lúteo llegó a la madurez. Un evento hormonal que se destaca en este periodo consiste en la presentación del pico posovulatorio de FSH que mantiene una relación directa con el inicio de la primera onda de desarrollo folicular. (Gonzalez, 2017)

4.6.4 Diestro

Es la fase del ciclo donde el cuerpo lúteo ha ya terminado de desarrollarse al máximo desde que ocurrió la ovulación, por lo tanto los niveles de Progesterona son los más altos. El aumento de esta hormona provoca una disminución de las gonadotropinas FSH y LH, al inhibir a la GnRh en el hipotálamo.

Va del día 4 al día 16 del ciclo.

Hormonas predominantes: Progesterona.

Hormonas que están bajas: FSH, LH y Estradiol, después de esta fase, el ciclo se puede seguir dos caminos continuar con el Proestro para repetir el ciclo o entrar en Anestro. (Rangel, 2012)

4.7 Selección de receptoras

Desde el punto de vista reproductivo una buena receptora es la hembra capaz de recibir un embrión y llevarlo a término. Más aún, la receptora deberá ser capaz de parir sin grandes dificultades y luego alimentar al ternero de manera que le permita expresar su potencial genético. En consecuencia, deberá ser de buen tamaño, tanto general como reproductivamente sana y de buena capacidad lechera. Esto no parece ser tan complicado, sin embargo tanto el tamaño como la producción de leche pueden tener significados

diferentes. El tamaño de la receptora dependerá del tipo de animal (embrión) que se transferirá. De acuerdo con las tendencias actuales, particularmente en las razas para carne, se busca un gran tamaño de ternero con pesos al nacimiento de 40 ó 50 kg y aún más. Por lo tanto, no se deben tener dudas de elegir hembras de gran tamaño. (Alberio, 2016)

En síntesis, el manejo de las receptoras incluye la elección de hembras de buena calidad que sean reproductivamente aptas, que tengan un buen nivel de alimentación y estén libres de enfermedades. Los sistemas para conseguirlas son tan variados como oportunidades aparezcan, sin olvidar que las receptoras constituyen uno de los puntos clave de la TE exitosa y por ello deberán ser tratadas en consecuencia.

4.8 Hormona Progesterona (P4)

La gestación comienza con la unión del ovocito y el espermatozoide en la ampolla del oviducto materno. La duración es de 283 días (243-316 días) y se la puede dividir en un período embrionario, que va desde la fertilización hasta los 45 días, y un período fetal, desde los 46 días hasta el parto. La duración de la gestación está influenciada por factores maternos, fetales, genéticos y ambientales (Bartolomé, 2009).

La progesterona (P4) es una hormona esteroide que tiene como precursor al colesterol. Es secretada por el cuerpo lúteo y por el complejo feto-placenta. Entre sus principales funciones en el proceso reproductivo están: promover el crecimiento de las glándulas endometriales, promover el desarrollo alveolar de la glándula mamaria, promover la actividad secretora del oviducto, prevenir la contracción del útero y regular la secreción de las gonadotropinas en la pituitaria (Rivas 2003); por otra parte niveles elevados de P4 inhiben la liberación de FSH y LH de la hipófisis anterior (Stevenson & Pitti, 2012).

La progesterona (P4) es una hormona esteroide secretada por el cuerpo lúteo (CL) y por la placenta que tiene papel fundamental en los eventos reproductivos y establecimiento, y mantenimiento de la gestación. La concentración de progesterona en la circulación es determinada por un equilibrio entre su producción y el metabolismo, cuyo órgano responsable es el hígado. Así, la tasa de metabolismo de P4 general es determinada por el

flujo sanguíneo hepático y puede tener importancia crítica en la determinación de la concentración de esta hormona en la circulación, especialmente en vacas de leche de alta producción (Ferreira, 2016).

4.9 Desarrollo embrionario

El desarrollo embrionario está influenciado por los niveles de progesterona producidos por el cuerpo lúteo (CL) que controlan el ambiente del oviducto y del útero. La secreción de progesterona por parte del CL estimula la actividad secretoria de las glándulas endometriales que producen sustancias encargadas de mantener el embrión hasta que se formen los placentomas, estas secreciones, denominadas vulgarmente "leche uterina", son absorbidas por el blastocisto y el saco vitelino y utilizadas como nutrientes durante la etapa previa a la formación del corioalantoides, embrión es activo desde el punto de vista endócrino desde muy temprano, produciendo esteroides, prostaglandinas y varias proteínas. Desde la ovulación hasta el día 15, la secreción de progesterona y el ambiente uterino son similares en vacas gestantes y vacas no gestantes, pero a partir del día 16, es necesario que el embrión emita una señal para evitar la luteólisis (Bartolomé, 2009).

Mórula temprana (Mt). Entre el día 5-6 aproximadamente, con 32-64 blastómeros. Sus blastómeros están unidos y constituyen una masa compacta que ocupa el 60- 70% del espacio perivitelino. La compactación es considerada como uno de los signos de diferenciación embrionaria, aunque los blastómeros conserven su capacidad totipotente.

-Blastocito temprano (Bt). Alrededor del día 7 con 100-200 células. Se caracteriza por el comienzo del transporte de fluido en las células trofoectodérmicas y por la formación de una cavidad (blastocelo) en el interior del embrión, dando la apariencia de un anillo de sello. El Bt ocupa 70-80% del espacio perivitelino. Es posible diferenciar el trofoblasto de la masa celular interna.

-Blastocisto (B). Del día 7-8, con 100-200 células. Existe una marcada diferenciación entre las células del trofoblasto, que constituyen una pared –que se adosa a la zona pelúcida- y la masa celular interna (o disco embrionario) más oscura.

-Blastocisto expandido (Be). Del día 7-8 con más de 200 células. El diámetro aumenta considerablemente con el consecuente adelgazamiento de la zona pelúcida a 1/3 de su espesor original. La presión creciente del blastocisto en crecimiento provoca la ruptura de la zona pelúcida, a través de la cual comienza su protrusión. Los embriones recuperados en este estadio se pueden colapsar temporalmente, esto se caracteriza por una pérdida completa o parcial del blastocele.

-Blastocisto protruido (Bp). Del día 8-9 con 200-800 células. Los embriones han abandonado la zona pelúcida. Su forma puede ser esférica, con un blastocele bien definido o colapsado (burbuja). La identificación en este estadio puede ser dificultosa para el inexperto operador. Los Bp pueden ser igualmente transferidos, sin embargo, los embriones desprovistos de la zona pelúcida son extremadamente frágiles y pegajosos, razón por la cual se acostumbra a transferir estadios de Mt a Be.

La determinación del grado de calidad del embrión permite caracterizar en términos (más o menos) cuantitativos las posibilidades de desarrollo y posterior nacimiento de un ternero a partir del embrión obtenido. Los diferentes grados de calidad fueron determinados por medio del microscopio (0.7-6.4x). Tanto la observación per se cómo la diferenciación entre un grado y otro es subjetiva y depende en gran parte de la experiencia del operador.

-G I: Excelente, el desarrollo corresponde al día de la recolección. No existen defectos visibles. Los blastómeros son claramente visibles, de color y estructura uniformes, simétricos, de forma esferoide y la zona pelúcida está intacta.

-G II: Bueno, el embrión tiene muy pocos blastómeros desprendidos de la masa celular y/o posee una pequeña cantidad de detritus celulares. Su forma puede ser ligeramente irregular.

-G III: Regular, el embrión posee varios defectos: detritus celulares, forma irregular, de color muy oscuro o muy claro y/o ligero agrietamiento de la zona pelúcida.

-G IV: Malo, el embrión posee muchos defectos: los correspondientes al G III más desarrollo retardado, seria ruptura de la zona pelúcida –el embrión puede encontrarse parcialmente fuera de ella-, forma muy asimétrica, tendencia a la desintegración como granulación o

vacuolización de los blastómeros. Incluye también a los estadios hasta 8 células y la clara degeneración. Esta categoría es considerada como no transferible.

4.10 Transferencia embrionaria.

La transferencia de embriones bovinos (sean frescos o congelados), como biotecnología aplicada, reconoce varias etapas que se inician con la hembra dadora y finaliza con las receptoras. Durante los últimos años se investiga con mayor énfasis la receptora y su influencia sobre el porcentaje de preñez, relacionándola con la raza, edad, estado sanitario, nivel nutricional y productivo; por el momento los resultados son contradictorios. También debe establecerse un perfil endocrinológico que asegure la potencial fertilidad de la receptora y el establecimiento satisfactorio de una preñez, por cuanto, luego de la transferencia, es decisivo un cuerpo lúteo (C.L.) funcional, que a su vez dependerá de las señales luteotróficas y antiluteolíticas del embrión. Aún no está definida la concentración de progesterona (P4) necesaria para que un embrión sobreviva durante la tercera semana post-implante; pero sí se han demostrado fallas en la concepción cuando la concentración de P4 es inferior a 1 ng/ml, por otro lado numerosas publicaciones señalan que los mayores índices de preñez, se logran con concentraciones de P4 que oscilan entre 2 y 5 ng/ml (Luca, 2007).

Los embriones bovinos, destinados a un programa de TE pueden ser obtenidos del útero por medios no quirúrgicos. Su recolección y transferencia con éxito dependen de varios factores. En primer lugar de la resistencia de éstos para sobrevivir y llegar a término después de ser recolectados del tracto genital, evaluados in vitro y transferidos a un genital receptor, con cambios de medio y temperatura. En segundo lugar depende de que la técnica de obtención no ponga en peligro la integridad del tracto genital, a fin de poder repetirla tantas veces como sea deseable y conveniente (Palma, 2014).

El empleo de embriones congelados posibilita utilizar eficientemente donantes y receptoras; incorporar progreso genético a bajo costo, comparando los valores del embrión y el de su transporte frente a los animales en pie; transferir algunos embriones y conservar el resto hasta poder analizar los registros de producción de la descendencia; controlar enfermedades exóticas, reemplazando la importación de animales en pie por la de embriones congelados

libres de ellas; crear bancos de embriones de valor pecuario, entre otras. Los registros de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones revelan que más del 50% de 500.000 embriones de bovino transferidos en los últimos años han sido usados después de ser congelados y descongelados (Thiber, 2002).

La implantación embrionaria se sustentaría en tres pilares: el embrión, la receptividad endometrial y la técnica de la transferencia, a pesar de la progresiva mejora de los resultados sigue existiendo una gran diferencia entre el número de embriones transferidos y los embarazos obtenidos. Tasas de implantación entre el 20% y 30% son consideradas normales, esta discrepancia se ha atribuido fundamentalmente a anomalías cromosómicas de los embriones y a alteraciones en la receptividad uterina, si bien otra causa del bajo número de embriones que se implantan podría atribuirse a deficiencias en la técnica de la transferencia (Martinez, 2005).

4.11 Prueba de Elisa

La prueba Elisa en bovinos es un enzimo-inmuno-ensayo que consiste en la detección precoz de glicoproteínas asociadas a la gestación (PAGs) y puede usarse en suero o plasma bovino (EDTA) a partir del día 28 post-inseminación con el objetivo de reducir el número de días abiertos, para realizar la prueba se extrae no menos de 2 ml de sangre del animal que se colocan en tubos de ensayo para centrifugar la muestra por 3 minutos aproximadamente, se retira el suero o plasma y se coloca en tubos eppendorf. Las muestras deben mantenerse refrigeradas mientras se llevan al laboratorio para realizar la prueba. Con esta prueba se facilita la detección temprana de preñez, donde se acorta los intervalos entre partos, se incrementa la producción de leche por la reducción de los días abiertos, mejorando la eficiencia reproductiva y reduciendo los gastos por animales. Se puede eliminar los animales menos fértiles del rebaño y mejorar la salud ya que de la misma prueba se puede analizar el mal de Johne y el virus de la diarrea bovina (BVD) (Zambrano W. I., 2015).

5. VALIDACIÓN DE HIPÓTESIS:

Hipótesis alternativa

H1: La Progesterona (P4), influirá en el índice de gestación de vacas receptoras.

Hipótesis nula

H0: La Progesterona P4), no influirá en la tasa de gestación de vacas receptoras.

6. MATERIALES

Materiales De Pre-sincronización

Hormonales

- GnRH
- Jeringas
- Guantes
- Agujas

Sincronización

- Prostaglandina
- Jeringas
- Guantes
- Agujas

Calificación, Visualización e Identificación de Embriones

- Welldishwith lid
- Jeringa de embolo plástico
- Estéreo microscopio
- Microscopio invertido micromanipulador
- Micropipeta 0,4 y 0,10 microlitro

Pruebas Hormonales

- ELISA

Transferencia de embriones

- Pistola de transferencia
- Catéteres
- Chemise
- Gel
- Guantes

7. PROCEDIMIENTO/MÉTODO:

7.1 Selección de vacas receptoras

Se seleccionaron 12 hembras receptoras y se tuvo en cuenta el criterio de (Alberio, 2016) que dice toda novilla adulta desde el punto de vista sexual y sin patologías reproductivas, así como toda vaca sana y sin trastornos ginecológicos puede ser tomada como hembra receptora. Son ideales los animales jóvenes, bien conformados, hembras multíparas o lactantes energéticamente equilibradas. Se tomó en cuenta un ciclo estral normal con anterioridad con lo que se logró una buena sincronización de donadoras y receptoras. (Revisar anexo 14.1)

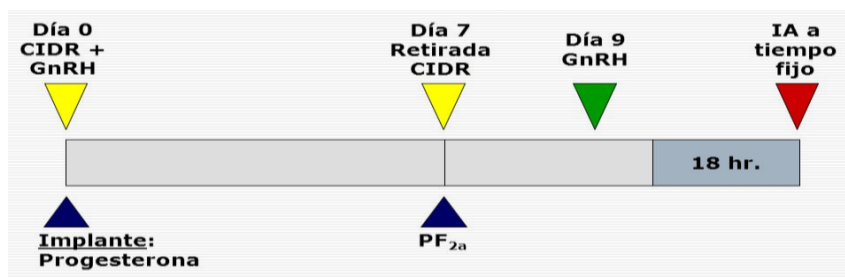
7.2 Sincronización de donadoras

Día 0

Dispositivo de aplicación intravaginal a base de progesterona CIDR + 0.4cc Benzoato de estradiol (Grafoleon) Im (2mg)+2 cc Progesterona Inyectable (Gestavec) IM. (50mg)

Día 5

Retiro de implante+ 2cc Cloprostenol (estrumate) + 2cc gonadotropina sérica de yegua preñada (eCG) con actividad de la hormona folículo estimulante (FSH) (folligon). (Revisar anexo 14.1)



7.3 Extracción de embriones de las donadoras

La extracción de embriones se realizó 7 días después de la inseminación mediante un lavado uterino transcervical esta fecha es lo más recomendable ya que los embriones se ubican al extremo anterior del cuerpo uterino y en ese momento los embriones se encuentra en estado de mórulas y blastocisto fases que son muy viables. (Ver anexo 14.2)

7.4 Visualización, calificación, y valoración de los embriones obtenidos

El Grado de calidad permitió caracterizar en términos cuantitativos y cualitativos la calidad del embrión estos fueron determinados por medio de la observación microscópica de la morfología con ayuda de una lupa estereoscópica, existen distintas escalas de calidad embrionaria, desarrolladas por distintos equipos de trabajo.

G I: Excelente, el desarrollo corresponde al día de la recolección. No existen defectos visibles. Los blastómeros son claramente visibles, de color y estructura uniformes, simétricos, de forma esferoide y la zona pelúcida está intacta

G II: Bueno, el embrión tiene muy pocos blastómeros desprendidos de la masa celular y/o posee una pequeña cantidad de detritus celulares. Su forma puede ser ligeramente irregular.

G III: Regular, el embrión posee varios defectos: detritus celulares, forma irregular, de color muy oscuro o muy claro y/o ligero agrietamiento de la zona pelúcida.

G IV: Malo, el embrión posee muchos defectos: los correspondientes al G III más desarrollo retardado, sería ruptura de la zona pelúcida -el embrión puede encontrarse parcialmente fuera de ella, forma muy asimétrica, tendencia a la desintegración como granulación o vacuolización. (Ver anexo 14.3)

7.5 Extracción y Transferencia de embriones.

La extracción de embriones se realizó 7 días después de la inseminación mediante un lavado uterino transcervical esta fecha es lo más recomendable ya que los embriones se ubican al extremo anterior del cuerpo uterino y en ese momento los embriones se encuentra en estado de mórulas y blastocisto fases que son muy viables, para la transferencia embrionaria se la realizó in vivo elaborando la pajilla para en lo posterior inseminar en este lapso no se demoró más de 5 minutos o hubiese muerto el embrión (Ver anexo 14.4)

7.6 Toma de muestras de sangre obtenidas de las donadoras y receptoras en diferentes días por tres semanas consecutivas

Días 7, 14, 21 y 28 días Post Transferencia, la muestra fue tomada de la vena coccígea en la zona ventral y media de la base de la cola a unos centímetros del ano el área fue se limpiada para evitar contaminar la muestra

7.7 Análisis de progesterona.

Se realizó mediante la prueba ELISA, para determinar glicoproteínas asociadas a la gestación (PAGs) Esta prueba consiste en la detección precoz y puede usarse en suero o plasma bovino (EDTA) a partir del día 28 post-inseminación con el objetivo de reducir el número de días abiertos, para realizar la prueba se extrae no menos de 2 ml de sangre del animal que se colocan en tubos de ensayo para centrifugar la muestra por 3 minutos aproximadamente, se retira el suero o plasma y se coloca en tubos eppendorf. Las muestras deben mantenerse refrigeradas mientras se llevan al laboratorio para realizar la prueba Con esta prueba se facilita la detección temprana de preñez, donde se acorta los intervalos entre partos, se incrementa la producción de leche por la reducción de los días abiertos, mejorando la eficiencia reproductiva y reduciendo los gastos por animales. Se puede eliminar los animales menos fértiles del rebaño y mejorar la salud ya que de la misma prueba se puede analizar el mal de Johne y el virus de la diarrea bovina (BVD) (Zambrano W. I., 2015).

7.8 Análisis estadístico mediante prueba T de student para muestras emparentadas

Se realizó el procedimiento Prueba T **de student** para muestras independientes, comparadas las medias de dos grupos de caso

8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Sobre un total de 12 vacas receptoras seleccionadas con anterioridad y transferidas embriones mórulas grado 1 al día 7; 11 de ellas (91,66%) presentaron preñez positiva al día 25 y mantuvieron la gestación efectiva, 4 (33,33%); presentando pérdida embrionaria 7 receptoras (58,33%). Así, el número de receptoras vacías al día 25 fue de 1 (8,33%) y de 8 (66,66%) vacías al día 35 demuestra que los niveles de progesterona de día 1 en receptoras pre transferencia embrionaria están dentro de los rangos de fase de metaestro; sin embargo a día 7, los niveles de progesterona plasmática aumentan porque el cuerpo lúteo ya está completamente estructurado, así, al día 14 los niveles de P4 en algunas receptoras aumenta en otras se mantiene y en otras disminuye (Tabla 1).

Probablemente por efectos de no reconocimiento de la gestación, insuficiente proteína trofoblastina, cuerpo lúteo de mala calidad, la superovulación y la sincronización no pueden verse como un hecho aislado, sino que éstas se basan en una serie de acontecimientos fisiológicos que abarcan procesos endocrinos desde el ciclo estral hasta la ovulación de los folículos que se han desarrollado en respuesta al tratamiento hormonal suministrado y que son los responsables en gran medida de que la respuesta al tratamiento sea de alta calidad, en términos de embriones recuperados y de su calidad sin dejar de mencionar el ambiente uterino no favorable y pérdida embrionaria; al día 21 los niveles de progesterona varían aumentando y manteniéndose en algunas receptoras, dotadas por las mismas causas mencionadas al día 14.

8.1 Embriones obtenidos

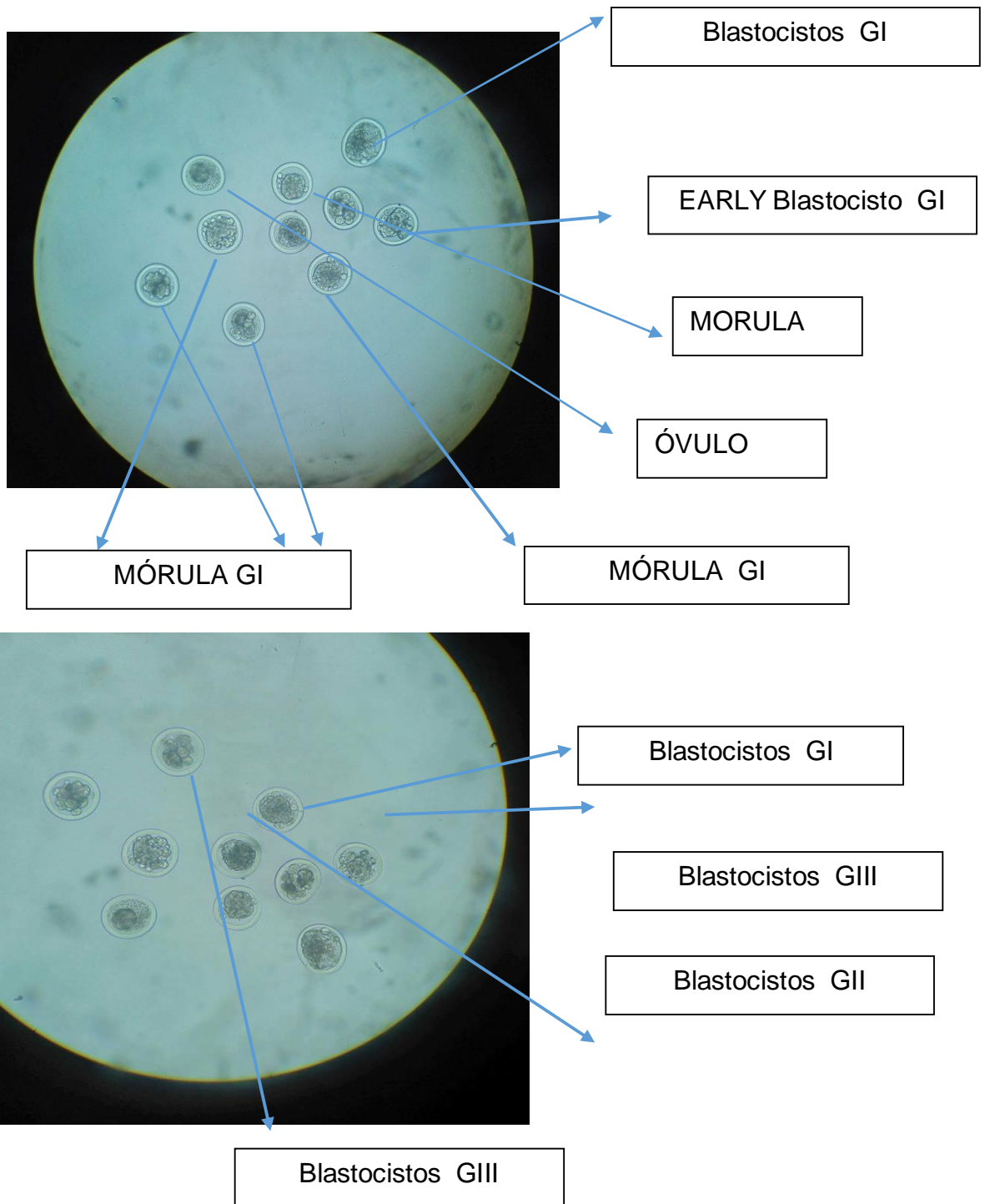


TABLA N° 1 Niveles de progesterona plasmática en receptoras de embriones/ grado y estadios de desarrollo embrionario/diagnóstico de gestación

| | Niveles concentración de P4 plasmática | Niveles concentración de P4 plasmática | Niveles concentración de P4 plasmática | Niveles concentración de P4 plasmática | | Niveles concentración de P4 plasmática | Embriones transferidos | | Vacas y Vacas Ecografía | Vacas y Vacas Ecografía | | |
|-------------------|--|--|--|--|--------|--|------------------------|------------|---|--|----------------------------|--------------------------|
| NOMBRE DEL ANIMAL | DIA 1 | DIA 7 | DIA 14 | DIA 21 | total | Promedio | Estadio de desarrollo | Grado I,II | Diagnóstico de gestación a los 25 días | Diagnóstico de gestación a los 35 días | Diagnóstico | EDADES de las receptoras |
| | | ng/mL | ng/mL | ng/mL | | | | | Preñadas 1/vacias 0/ muerte embrionaria 2 | Preñadas 1/vacias 0 | | |
| MARITZA | 0,28 | 14,54 | 32,8 | 54,78 | 102,13 | 34,04 | Mórulas | Grado I | 1 | 1 | TERMINO DE GESTACION | 1,7 |
| ERIKA | 1,11 | 38,4 | 51,7 | 11,89 | 101,95 | 33,98 | Mórulas | Grado I | 2 | 0 | PREÑADA MUERTE EMBRIONARIA | 4 |
| YADIRA | 3,15 | 30,68 | 57,7 | 63,24 | 151,57 | 50,52 | Mórulas | Grado I | 1 | 1 | TERMINO DE GESTACION | 5 |
| LAURITA 1 | 1,86 | 44,55 | 58,1 | 13,13 | 115,73 | 38,58 | Mórulas | Grado I | 2 | 0 | PREÑADA MUERTE EMBRIONARIA | 5 |
| LAURITA 2 | 0,75 | 16,18 | 10,5 | 15,12 | 41,76 | 13,92 | Mórulas | Grado I | 2 | 0 | PREÑADA MUERTE EMBRIONARIA | 5 |
| FRESIA | 3,82 | 42,1 | 34,4 | 51,26 | 127,77 | 42,59 | Mórulas | Grado I | 1 | 1 | TERMINO DE GESTACION | 1 |
| VALENTINA | 1,45 | 33,13 | 40,84 | 34,9 | 108,87 | 36,29 | Mórulas | Grado I | 1 | 1 | TERMINO DE GESTACION | 2,75 |
| MILAGROS 1 | 3,01 | 10,08 | 8,26 | 10,48 | 28,82 | 9,61 | Mórulas | Grado I | 0 | 0 | VACIA | 5 |
| DANIELA | 0,94 | 14,41 | 71,1 | 62,8 | 148,31 | 49,44 | Mórulas | Grado I | 2 | 0 | PREÑADA MUERTE EMBRIONARIA | 5 |
| MILAGROS 2 | 3,99 | 20,9 | 14,7 | 36,7 | 72,3 | 24,10 | Mórulas | Grado I | 2 | 0 | PREÑADA MUERTE EMBRIONARIA | 5 |
| MARTITHA | 1,37 | 40,5 | 52,6 | 51,6 | 144,7 | 48,23 | Mórulas | Grado I | 2 | 0 | PREÑADA MUERTE EMBRIONARIA | 8 |
| SISA | 0,1 | 23,1 | 14,8 | 20,7 | 58,6 | 19,53 | Mórulas | Grado I | 2 | 0 | PREÑADA MUERTE EMBRIONARIA | 3 |
| TOTAL | 21,83 | 328,57 | 447,3 | 426,6 | | 400,83 | | | | | | |
| PROMEDIO | 1,82 | 27,38 | 37,28 | 35,55 | | 33,40 | | | | | | |

Fuente: Directa
Elaborado Por: (DURÁN, P; 2018)

Los porcentajes de gestación y muerte embrionaria respecto a los niveles de progesterona en las receptoras (Tabla 2), muestran que existe una relación entre las pérdidas embrionarias, gestación a los 25 días, gestación a los 35 días, vacías a los 25 días y vacías a los 35 días post transferencia de embriones. Un factor principal es la mortalidad embrionaria temprana que se da cuando el 25% o más de embriones que pasan por el oviducto hasta llegar al útero no terminan de desarrollarse, esto ocurre durante las primeras tres semanas de la gestación. (Rivera, 2015). Se determina que valores inferiores a 10,48 ng/ml en las receptoras transferidas a los 25 días son incompatibles con la gestación mismos que podemos relacionar a los múltiples factores internos y externos que impiden la preñez, algunos que se mencionan son factores de manejo como el incremento en la producción de leche, la ingesta de alimento desbalanceado, cambios en la condición corporal y el estrés calórico, valores inferiores a 12,58ng/ml se presentaron en las receptoras a los 35 días post transferencia embrionaria; valores superiores a 41, 27ng/ml registraron las receptoras a los 25 días de gestación, y valores promedio de 39,95 ng/ml presentaron las gestaciones a los 35 días post transferencia.

TABLA N° 2. Niveles de progesterona plasmática / porcentaje de gestación/muerte embrionaria

| Diagnóstico de gestación/receptoras | Número de receptoras transferidas | Progesterona ng/ml | % de gestación |
|-------------------------------------|-----------------------------------|--------------------|----------------|
| Gestaciones a 25 días | 11 | 41,27 | 91,66% |
| Vacías a los 25 días | 1 | 10,48 | 8,33% |
| Gestaciones a 35 días | 4 | 39,95 | 33,33% |
| Vacías a 35 días | 8 | 12,58 | 66,66% |
| Muerte embrionaria | 7 | 18,32 | 58,33% |

Fuente: Directa

Elaborado Por: (DURÁN, P; 2018)

Muestra los porcentajes de preñez a día 25 y 35 , así como los porcentajes de vacías a día 25 y 35 para cada uno de los grupos respectivamente fue: 91,66%; 33,33%; 8,33% y 66,66%, las diferencias son muy variables principalmente entre los días 25 y 35 por el alto porcentaje de pérdidas embrionarias observadas La exacerbación de las condiciones ambientales (temperatura, humedad y radiación solar) unida a la baja calidad de los forrajes, induce disminución de la eficiencia reproductiva en el ganado bovino debido a alteraciones endocrinas, por lo tanto estos factores podrían generar alteraciones metabólicas e influenciar en la síntesis de hormonas que participan en la gestación. (Salazar, 2009).

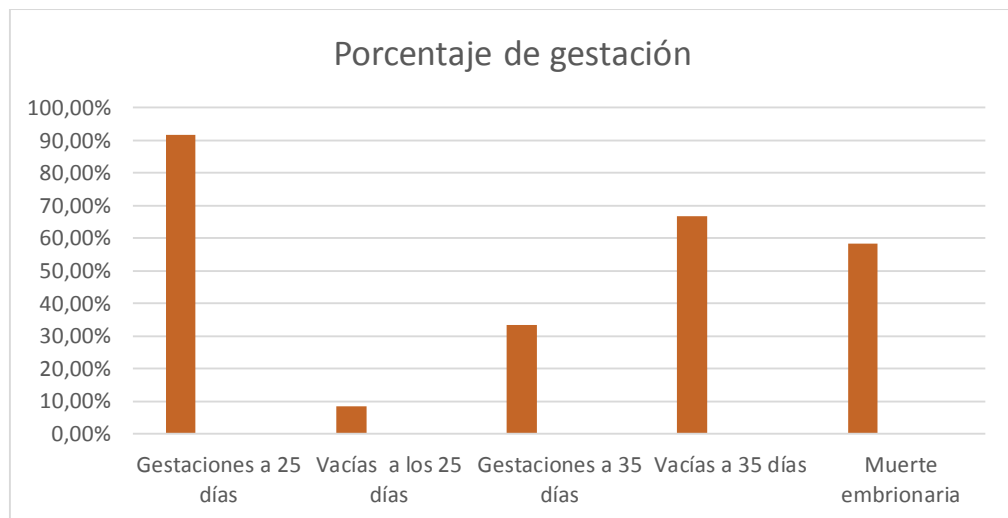


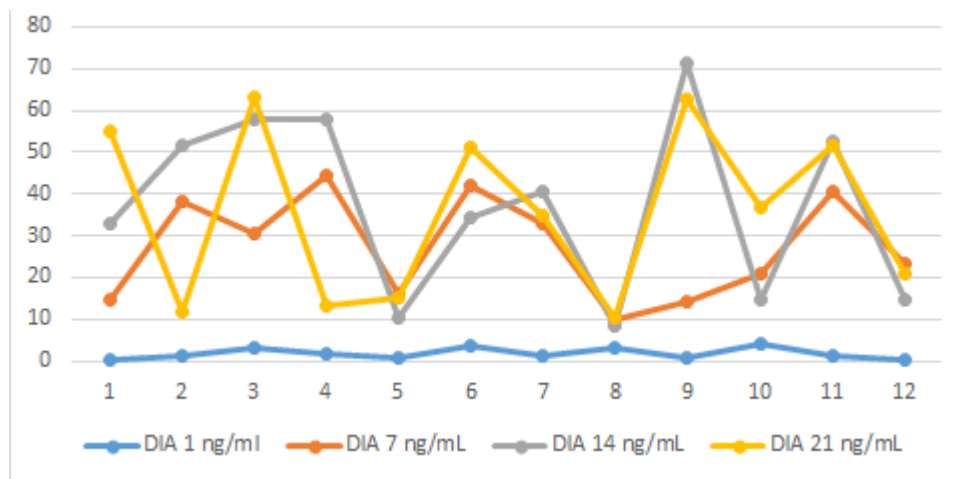
FIGURA N° 1. Porcentaje de gestación

Fuente: Directa

Elaborado Por: (DURÁN, P; 2018)

En el presente gráfico se representan los niveles de concentración de progesterona plasmática al día 1, este determina concentraciones que van de rangos de 0,1 a 3,99 ng/ml que estarían en relación a los estados de metaestro, diestro inicial y proestro. Al día 7 los niveles de progesterona van de 20,9 a 44,55 ng/ml que representarían niveles de P4 en relación a la cantidad de P4 producida por el cuerpo lúteo en fase de diestro. Al día 14 los niveles de P4 plasmática van de 14,7 a 57,7 ng/ml representados y secretados por un cuerpo lúteo de gestación posterior al reconocimiento de la gestación por la producción de trofoblastina y por tanto bloqueo de la lisis del cuerpo lúteo. Así, al día 21 los niveles de P4 plasmática van de 10,48 a 63,24 ng/ml determinando que el cuerpo lúteo se mantiene por la persistencia de gestación en el nivel más alto, sin embargo el límite inferior de concentración determino que la progesterona disminuyo por muerte embrionaria y por tanto lisis de cuerpo lúteo. Que coincide con lo reportado por (Palma, G. A. 2014)

FIGURA N° 2 Niveles de Concentración de Progesterona Plasmática (ng/ml) pre y post Transferencia de Embriones- días 1,7,14 y 21.



Fuente: Directa

Elaborado Por: (DURÁN, P; 2018)

TABLA N° 3. Niveles de progesterona día 1 vs. Día 7.

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas
entre los niveles de progesterona día 1 y día 7

| | <i>Concentraci3n de P4 d1a</i> <i>1</i> | <i>Concentraci3n de P4</i> <i>d1a 7</i> |
|--|--|--|
| Media | 1,8191 | 27,3808 |
| Varianza | 1,8171 | 151,5581 |
| Observaciones | 12 | 12 |
| Coeficiente de correlaci3n de Pearson | 0,1892 | |
| Diferencia hipot3tica de las medias | 0 | |
| Grados de libertad | 11 | |
| Estad1stico t | -7,3009 | |
| P(T<=t) una cola | 7,7046 | |
| Valor cr1tico de t (una cola) | 1,7958 | |
| P(T<=t) dos colas | 1,5409 | |
| Valor cr1tico de t (dos colas) | 2,2009 | |

Fuente: Directa

Elaborado Por: (DURÁN, P; 2018)

En la presente tabla observamos que no existe diferencia significativa ya que p-valor es 1,54094E-05 siendo mayor que 0,05. Así, el valor de la medias de los niveles de P4 plasmática determinan que existen desniveles entre el día 1 y 7 por cuanto se encuentran en diferentes estados del ciclo estral, metaestro y diestro respectivamente. (Guadarrama, M. G. 2015)

TABLA N° 4. Niveles de progesterona día 7 vs. Día 14

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas
entre los niveles de progesterona día 7 y día 14

| | <i>Concentracion de P4 día 7</i> | <i>Concentración de P4 día 14</i> |
|---|--------------------------------------|---------------------------------------|
| Media | 27,3808 | 37,2917 |
| Varianza | 151,5582 | 459,3139 |
| Observaciones | 12 | 12 |
| Coefficiente de correlación de Pearson | 0,4914 | |
| Diferencia hipotética de las medias | 0 | |
| Grados de libertad | 11 | |
| Estadístico t | -1,8311 | |
| P(T<=t) una cola | 0,0471 | |
| Valor crítico de t (una cola) | 1,7959 | |
| P(T<=t) dos colas | 0,0943 | |
| Valor crítico de t (dos colas) | 2,2010 | |

Fuente: Directa

Elaborado Por: (DURÁN, P; 2018)

En la presente tabla observamos que no existe diferencia significativa ya que p-valor es 0,0943 siendo mayor que 0,05. Así, el valor de la medias de los niveles de P4 plasmática determinan que la concentración entre el día 7 y 14 no son amplios ni determinan diferencias numéricas evidentes, por cuanto la receptora se encuentran en fase de diestro con cuerpo lúteo de día 7 a 14, además el embrión está secretando trofoblastina para el reconocimiento de la gestación, asegurando la persistencia del cuerpo lúteo y secreción de P4. (Moller, P. 2014)

TABLA N° 5. Niveles de progesterona día 1 vs. Día 7

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas
entre los niveles de progesterona día 14 y día 21

| | <i>Concentración de P4 día 14</i> | <i>Concentración de P4 día 21</i> |
|--|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Media | 37,2916 | 35,55 |
| Varianza | 459,3138 | 428,5552 |
| Observaciones | 12 | 12 |
| Coeficiente de correlación de Pearson | 0,4863 | |
| Diferencia hipotética de las medias | 0 | |
| Grados de libertad | 11 | |
| Estadístico t | 0,2824 | |
| P(T<=t) una cola | 0,3914 | |
| Valor crítico de t (una cola) | 1,7958 | |
| P(T<=t) dos colas | 0,7828 | |
| Valor crítico de t (dos colas) | 2,2009 | |

Fuente: Directa

Elaborado Por: (DURÁN, P; 2018)

En la presente tabla observamos que no existe diferencia significativa ya que p-valor es 0,7828 siendo mayor que 0,05. Así, el valor de la medias de los niveles de P4 plasmática determinan que la concentración entre el día 14 y 21 no son amplios ni determinan diferencias numéricas evidentes, por cuanto la receptora ya han pasado la fase de diestro con cuerpo lúteo de día 14 y este por efecto del reconocimiento de la gestación a través de la trofoblastina, el cuerpo lúteo de diestro se transforma en cuerpo lúteo de gestación, asegurando su persistencia y niveles de (P4. Salazar, A. 2009).

TABLA N° 6. Niveles de progesterona día 1 vs. Día 21

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas
entre los niveles de progesterona día 1 y día 21

| | <i>Concentración de P4 día 1</i> | <i>Concentración de P4 día 21</i> |
|-------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| Media | 1,8191 | 35,55 |
| Varianza | 1,8171 | 428,5552 |
| Observaciones | 12 | 12 |
| Coe | | |
| ficiente de correlación de Pearson | 0,1421 | |
| Diferencia hipotética de las medias | 0 | |
| Grados de libertad | 11 | |
| Estadístico t | -5,6851 | |
| P(T<=t) una cola | 0,0001 | |
| Valor crítico de t (una cola) | 1,7959 | |
| P(T<=t) dos colas | 0,0001 | |
| Valor crítico de t (dos colas) | 2,2010 | |

Fuente: Directa

Elaborado Por: (DURÁN, P; 2018)

En la presente tabla observamos que existe diferencia estadística significativa ya que p-valor es 0,0001 siendo menor que 0,05. Así, el valor de la medias de los niveles de P4 plasmática determinan que la concentración entre el día 1 y 21 son muy amplios determinando diferencias numéricas evidentes. Así, al día 1 por la fase de metaestro los niveles son bajos y no corresponden a una gestación y los niveles de P4 a día 21 ya corresponden a una gestación evidente. (Zambrano, W. I. 2015).

TABLA N° 7. Niveles de concentración de progesterona en receptoras transferias embriones con diagnóstico de no gestantes y con muerte embrionaria.

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas
de los niveles de progesterona entre receptoras vacías y gestantes con muerte embrionaria

| | <i>Concentración de P4 en receptoras no gestantes</i> | <i>Concentración de P4 en receptoras con muerte embrionaria</i> |
|---------------------------------------|---|---|
| Media | 9,61 | 32,54 |
| Varianza | 0 | 192,9232 |
| Observaciones | 7 | 7 |
| Coeficiente de correlación de Pearson | | |
| Diferencia hipotética de las medias | 0 | |
| Grados de libertad | 6 | |
| Estadístico t | -4,3678 | |
| P(T<=t) una cola | 0,0024 | |
| Valor crítico de t (una cola) | 1,9432 | |
| P(T<=t) dos colas | 0,0047 | |
| Valor crítico de t (dos colas) | 2,4469 | |

Fuente: Directa

Elaborado Por: (DURÁN, P; 2018)

En la presente tabla observamos que existe diferencia estadística significativa ya que p-valor es 0,0047 siendo menor que 0,05. Por tanto, el valor de la medias de los niveles de P4 plasmática de las receptoras no gestantes en relación a las receptoras que perdieron la gestación por muerte embrionaria, se atribuiría a una correlación de la secreción de progesterona limitada que influiría en el ambiente uterino adverso para el desarrollo embrionario, reconocimiento de la gestación, implantación y mantención de la preñez. Además, se presume que las bajas tasas de preñez, cuando se transfieren embriones de buena calidad, frescos o congelados, podrían estar relacionadas con la calidad del cuerpo lúteo (tamaño y concentración de progesterona), el grado de sincronía y la raza (cruzamiento) de la receptora. Para el reconocimiento materno embrionario, el embrión debe encontrar un medio uterino apropiado, influido por la progesterona (P4) lútea, ya que esta estimula la producción de una variedad de secreciones endometriales, como el MUC-1 (mucin glycoprotein-1), el lactógeno placentario y las osteopontinas, necesarias para el adecuado desarrollo de los embriones (Stevenson & Pitti, 2012)

8.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados sobre las receptoras seleccionadas y transferidas se relacionan a los encontrados en la literatura, donde se plantea que el nivel sanguíneo de progesterona (P4) es importante porque permite orientar programas de manejo reproductivo, disminuyendo los costos de producción al incrementar la eficiencia de la receptora de embriones. (Márquez, Otero, & López, 2012). Así, la evaluación de la concentración de progesterona plasmática (P4) como un criterio adicional en la mejora de la gestación en receptoras al momento de la transferencia y posterior; con la idea de incrementar los índices de preñez, coinciden con otras publicaciones, donde los mejores índices de preñez se logran en aquellas receptoras que presenten niveles de P4 plasmática entre 15 y 45 ng/ml. Así, el número de receptoras vacías al día 25 fue de 1 (8,33%) y de 8 (66,66%) vacías al día 35. Las receptoras fueron divididas en dos grupos A y B, de acuerdo a los niveles de P4 plasmática, el grupo A lo constituyeron todos los animales cuya progesterona fue valorada al día 1 del ciclo estral en fase de metaestro y el grupo B engloba a las receptoras de día 7,14 y 21 post transferencia de embriones . Por tanto, el ritmo de secreción de P4 por parte del cuerpo lúteo es importante ya que permite que exista una sincronización entre el medio intrauterino y el desarrollo del embrión. Así, un aumento prematuro de dicho esteroide durante el metaestro iniciaría un asincronismo entre ambos, similar a la situación que ocurre después de la transferencia de un embrión a una receptora que presentara celo 2 a 3 días antes que la donante (Alberio, R. 2016).

Dentro del grupo de las 12 receptoras, a día 1 en fase de metaestro los niveles de progesterona mantiene los rangos que van indistintamente desde los límites inferiores 0,28 a 3,82ng/ml, que se corresponde con los niveles reportados por la literatura, y estos están superditados a la capacidad de transformación e hiperplasia de células de la granulosa, y colonización de células luteales en el cuerpo hemorrágico generado. También, es sabido que la sobrevivencia del embrión transferido es mayor cuando las concentraciones plasmáticas de P4 en el 7° al 8° día del ciclo son moderadas. Si bien no se conocen con exactitud los niveles mínimos que aseguran la viabilidad embrionaria, pueden considerarse adecuadas concentraciones de P4 superiores a los 10 ng/ml. (Ferreira, 2016).

Además en las tablas se muestra el ordenamiento de las receptoras transferidas y los resultados de preñez en función de los niveles de P4 plasmáticos a día 1 pre implantación y días 7,14 y 21 post implantación. Los porcentajes de preñez a día 25 y 35, así como los porcentajes de vacías a día 25 y 35 para cada uno de los grupos respectivamente fue: 91,66%; 33,33%; 8,33% y 66,66%. Las diferencias son muy variables principalmente entre los días 25 y 35 por el alto porcentaje de pérdidas embrionarias observadas. Estos resultados son inferiores a los estudios presentados por Leonardo J. De Luca, 2007 en el que los porcentajes de preñez fueron 67.9% y 9.09% para aquellas receptoras con niveles de P4 entre 10 y 25 ng/ml, y menos de 10 ng/ml respectivamente. Por otra parte, estos niveles podrían estar influenciados por la raza ejerce algún tipo de efecto con respecto al tamaño del cuerpo lúteo (por el tamaño del folículo ovulatorio y el número de células de la granulosa), lo cual puede estar ejerciendo un efecto positivo o negativo sobre las tasas de concepción, o la raza puede estar, a su vez, actuando directamente sobre las tasas de preñez, como lo reporta Olson publicado por (Fernandez & Ruiz, 2016).

En la tabla N° 2, establece la relación entre la calidad embrionaria, nivel plasmático de P4 receptoras trasplantadas y preñadas. Como puede observarse no hay diferencias entre los rangos de progesterona plasmáticos descritos para gestación en bovino.. Además, se observó que la receptora que no quedo preñada; 1 de ellas (8,33%) retornaron al celo en un período fisiológico (18 a 23 días); mientras 7 receptoras (58,33%) manifestaron un intervalo. Además, es importante señalar que los embriones transferidos en estadio de mórulas y de calidad excelente (grado1) generaron gestación del 91,66%; sin embargo, 7 de ellos (58,33%) se perdió por muerte embrionaria, generada posiblemente por muchos factores inherentes al medio ambiente uterino, implantación en endometrio (inflamación) y a factores propios del embrión (alteraciones cromosómicas). Por tanto, se podría considerar que un embrión en estadio de Mórula temprana (Mt) se congelado y su viabilidad esta superditada por su calidad. Los embriones excelentes son los que producen tasas de preñez promedio al ser congelados o transferidos frescos. Las tasas de preñez promedio son 65% para transferencia en estado fresco y 55% para embriones congelados/descongelados según lo reportado por la IETS 2017. Schneider et al. (2016) obtuvieron porcentajes de preñez de 61%, 67%, 67% y 71% con embriones en estadios de desarrollo Mt, Mc, Bt, y Be

respectivamente. Posiblemente exista una tendencia creciente en la tasa de gestación a medida que avanza el desarrollo del embrión. Así, mórulas tempranas se encontraron retardadas en su desarrollo de acuerdo al momento de la recolección al 6to y 8to días (Elsden et al. 2014; Hasler et al. 2015). ; además, los defectos morfológicos son más fáciles de observar en estadios embrionarios avanzados (Halley et al. 1979 reportado 2014). Finalmente, Según Hansen reportado por Luca, L. 2007, el éxito de estos programas de transferencia de embriones y del éxito de las gestaciones depende de diversas variables, entre ellas: calidad del embrión, experiencia del técnico y nutrición de las receptoras de los embriones, las cuales, dependiendo de diversos factores, le brindará, en menor o mayor porcentaje, la supervivencia y adaptabilidad al embrión, primero a nivel uterino y, luego, si se concibe la preñez, al medioambiente exterior.

9. CONCLUSIONES

- La tasa de gestación en receptoras transferidas embriones al día 7 se relacionan directamente con los niveles de progesterona plasmática y la calidad embrionaria.
- Los niveles de progesterona plasmática en receptoras de embriones al día 7,14 y 21 determinaron valores medios que se corresponden con la supervivencia embrionaria en el lumen uterino, además la tasa de gestación de las receptoras presentaron variabilidad entre el día 25 y 35, por cuanto se determinó un alto porcentaje de muerte embrionaria, así los porcentajes de gestación al día
- Los niveles de concentración plasmática de progesterona inciden directamente en el índice de gestación,

10. RECOMENDACIONES

- Previo a un protocolo de transferencia de embriones, se recomienda el uso de vacas vírgenes, sin embargo se puede utilizar vacas de primer, segundo y tercer parto previa infusión uterina con antibióticos para reducir el % de endometritis subclínica.
- Es evidente la influencia de la P4 en los porcentajes de gestación, por tanto se recomienda la aplicación de progesterona exógena para mejorar el ambiente uterino, desarrollo embrionario y mantención de la gestación.
- Proponer futuras investigaciones para definir o determinar el rango y frecuencia de aplicación de P4 exógena e las receptoras post transferencia de embriones.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Alberio, R. (2016). Manejo de Donantes y Receptoras .
http://www.reprobiotec.com/libro_rojo/capitulo_02.pdf.
- Alzate, D. (2017). Hormonas del Ciclo estral de la vaca. *Ciclo Estral de la vaca* .
- Bartolomé, J. A. (2009). ENDOCRINOLOGÍA Y FISIOLOGÍA DE LA GESTACIÓN Y EL PARTO EN EL BOVINO . *Produccion Animal* .
- Baruselli, E. (2010). ACTUALIZACIÓN SOBRE PROTOCOLOS DE IATF.
Produccion animal.
- Cardona, J. C. (2013). Anatomía y fisiología Reproductiva de la Hembra Bovina.
Produccion Animal.
- Correa, A. (2015). Generalidades de la Ganadería Bovina. *Blogspot*.
- Cutaia, L. E., & Souza, A. H. (2009). ACTUALIZACIÓN SOBRE PROTOCOLOS DE IATF. *Produccion Animal* .
- D, F. (2004). Técnica de la Transferencia embrionaria . *Seafertilidad* .
- Fernandez, A., & Ruiz, J. M. (2016). La producción de embriones in vitro bovinos a nivel mundial. *Biología Reproductiva (BR)*.
- Ferreira, E. (2016). Importancia de la Progesterona. *Ourofino Saúde Animal*.
- Gonzalez, K. (2017). El ciclo estral de la vaca. *Reproduccion Bovina*.
- Gordon, I. (2004). *tecnología de la reproducción en Animales de Granja*. España: ACRIBIA, S A.
- Guadarrama, M. G. (2015). Reproduccion . *Virbac Salud Animal Al Dia*.
- Intervet. (2014). Proestro . *Reproduccion Veterinaria* .
- Luca, L. (2007). *NIVELES PLASMÁTICOS DE PROGESTERONA EN RECEPTORAS DE EMBRIONES CONGELADOS DETERMINADOS POR ELISA-TEST*.
- Márquez Isabel C. , Otero Luis y López Ortega Aura . (2012). CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA SÉRICA EN HEMBRAS. *GACETA DE CIENCIAS VETERINARIAS*.

- Márquez, I. C., Otero, L., & López, A. (2012). CONCENTRACION DE PROGESTERONA SERICA EN HEMBRAS. *GACETA DE CIENCIAS VETERINARIAS*.
- Márquez, J. (2015). Fisiología Reproductiva de la vaca. *Generalidades de la ganadería Bovina*.
- Martinez, C. (2005). Fisiología de la Reproduccion Bovina . *blogspot*.
- Moller, P. (2014). Posibilidades Terapeuticas y Biotecnológicas En La Reproducción Animal. *Revista Científica FCV-LUZ Vol.XIV N° 2 162-167*.
- Palma, G. A. (2014). RECOLECCIÓN DE LOS EMBRIONES. *Reprobiotec*.
- Proestro. (2014). *Reproducción Veterinaria*,
<https://www.reproduccionveterinaria.com/fisiologia-y-anatomia-obstetrica/fisiologia-obstetrica2/ciclo-estral/ciclo-estral-en-la-vaca/>.
- Rangel, L. (2012). Ciclo estral en bovinos . *Reproduccion Bovina* .
- Rivera, M. (2015). Endocrinología . *Manual de Reprosuccion Bovina*.
- Robson, C. (2004). Proyecto Ganadero corrientes. *CENTRO REGIONAL CORRIENTES*.
- Salazar, A. (2009). hormonas encargadas de la reproduccion. *Biotechnologia de la Reproduccion*.
- Sánchez. (2017). Desarrollo de sistema web de control y gestion ganadero para la ganaderia La Esperanza. *Trabajo de Titulacion*.
- Seidel, G., & Moore, S. (2010). Aplicaciones de la transferencia de embriones. *ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN*.
- Stevenson, J., & Pitti, L. (2012). Concentración de progesterona y porcentaje de preñez en vacas tratadas con GnRH pos IA. *Blog digital de Zamorano*.
- Thiber, M. (2002). Vitricación como técnica de crioconservación de embriones bovinos. *Scielo*.
- Yanguma, C. (2009). Aparato reproductor de la Hembra Bovina. *Reproduccion Bovina* .
- Zambrano, R. (2015). La ganaderia Bovina. *Asamblea Navional del Ecuador* .

Zambrano, W. I. (2015). DIAGNÓSTICO TEMPRANO DE PREÑEZ CON ELISA .
blogdigital Zamorano.

11. ANEXOS

a. Selección, preparación y aplicación de protocolo a vacas receptoras

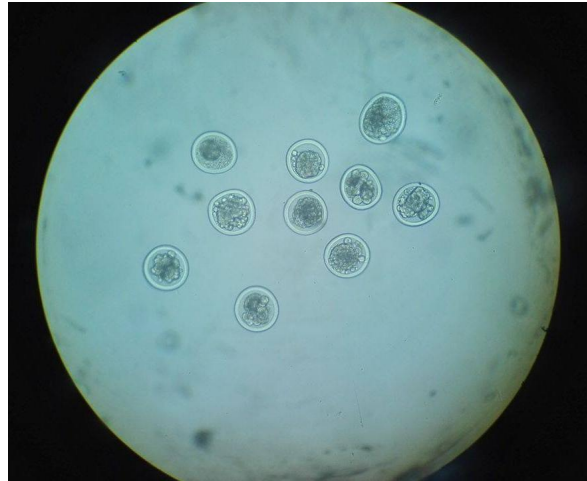
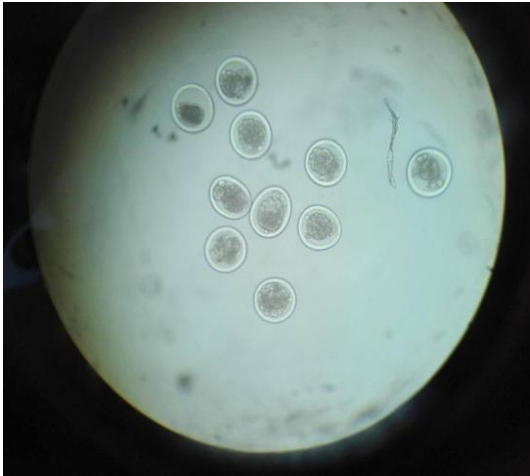


b. Lavado y extracción de embriones





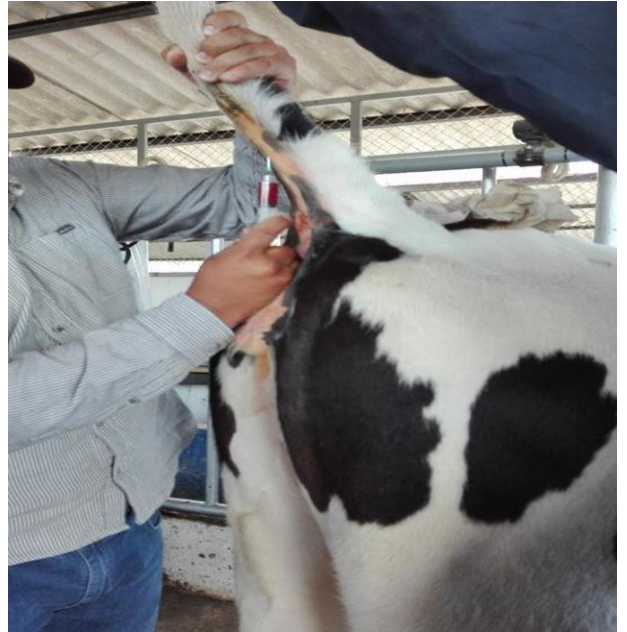
c. Visualización y Valoración de embriones viables grado 1



d. Transferencia de embriones



e. Toma de muestras



f. Parto de receptores que llegaron a término de gestación



Yadira

Fresia



Maritza



Valentina



AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad del docente del idioma ingles del Centro de Idiomas del Centro Cultural de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; En forma legal **CERTIFICO** que: la traducción del resumen del proyecto experimental al idioma ingles presentado por el Señorita Egresada de la Carrera de Medicina Veterinaria de la Unidad Académica Agropecuaria de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales: **DURAN MARTÍNEZ JACQUELINE PAULINA** , cuyo título versa “**EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE PROGESTERONA EN RECEPTORAS HOLSTEIN FRIESIAN TRANSFERIDAS EN RELACIÓN AL ÍNDICE DE GESTACIÓN**”, lo realizo bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimen conveniente.

Latacunga, Febrero 2018

Atentamente,

Lic Jose Ignacio Andrade Morán

Docente del Centro de Idiomas

CC: 0503101040

Equipo de Trabajo:

Tutor de titulación

Datos personales.

Nombres y apellidos: Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

Fecha de nacimiento: 24 / Abril / 1979

Cédula de ciudadanía: 0502236623

Nacionalidad: Ecuatoriana

Numeros telefónicos: 0995407023

E-mail: mgutierrezreinoso@hotmail.com



2.- ESTUDIOS REALIZADOS

Nivel primario: Escuela Isidro Ayora

Nivel secundario: Instituto Superior Vicente León

Nivel superior: Universidad Técnica de Cotopaxi

Nivel posgrado: Universidad Tecnológica Equinoccial – Maestría en producción Animal.

Nivel posgrado: Diploma: Universidad Austral de Chile – Facultad de Ciencias veterinarias –

CENEREMA

*.Diploma: Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Complutense de Madrid– España.

*Estancia: Instituto de Reproducción Animal – INIA – Madrid España.

*Estancia: Laboratorio de Fertilización In vitro- INIA – Madrid España.

*Estancia: Instituto de Reproducción Animal – IRAC – Córdoba – Argentina

Autor del Trabajo:

Apellidos: Durán Martínez

Nombres: Jacqueline Paulina

Estado Civil: Soltero

Cédula de Ciudadanía: 1804808481

Lugar y fecha de nacimiento: Ambato, La Matriz, 07 de Julio 1991

Dirección Domiciliaria: Ambato, Cdla El Buen Pastor, Ingapirca y Oyambaro

Teléfono Celular: (+593) 983812016

Teléfono Convencional: 032-408377

Email: jacqueline.duran1@utc.edu.ec

Nacionalidad: Ecuatoriana

ESTUDIOS:

*Escuela Sergio Quirola, Ciudad de Ambato, Primaria, 2003

*Instituto Tecnológico Agropecuario Luis A. Martínez, Ambato, Bachiller Técnico en Agropecuaria. 2012.

*Instituto Tecnológico Agropecuario Luis A. Martínez, Ambato, Tecnólogo en Producción Pecuaria

*Universidad Técnica de Cotopaxi- Campus Salache, Ciudad de Latacunga, MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, 9no Semestre en Curso; Periodo Abril - Agosto 2017, Universitario

