

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



Trabajo previo a la obtención del grado de:

**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TEMA:**

**“EFECTO DE LA SUPEROVULACIÓN SOBRE LA CINÉTICA  
FOLICULAR EN OVEJAS DE RAZA KATAHDIN Y CRIOLLAS DE  
ECUADOR”**

**AUTOR:**

**ESTEBAN NICOLÁS CORREA SALGADO**

**TUTOR:**

**ING. MG. GONZALO ARAGADVAY**

**Cevallos – Ecuador**

**2021**

**A. PÁGINAS PRELIMINARES**

**APROVACIÓN DEL TUTOR**

**“EFECTO DE LA SUPEROVULACIÓN SOBRE LA CINÉTICA FOLICULAR  
EN OVEJAS DE RAZA KATAHDIN Y CRIOLLAS DE ECUADOR.”**

**REVISADO POR:**



Firmado electrónicamente por:  
**RAMON GONZALO  
ARAGADVAY YUNGAN**

-----  
Ing. Mg. Gonzalo Aragadvay

**TUTOR**

## DERECHOS DE AUTOR

El proyecto final de investigación titulado **“EFECTO DE LA SUPEROVULACIÓN SOBRE LA CINÉTICA FOLICULAR EN OVEJAS DE RAZA KATAHDIN Y CRIOLLAS DE ECUADOR.”** que se muestra en el presente informe, como previo requisito para la obtención del título de tercer nivel de Médico Veterinario Zootecnista en la Universidad Técnica de Ambato, cuenta con mi autorización para que la biblioteca de la Facultad de Ciencias Agropecuarias haga uso de este documento como material de lectura y aprendizaje, siguiendo las normas establecidas por la Universidad.

En acuerdo conjunto entre el autor y la institución, se pueda realizar cualquier copia de este Informe Final, teniendo en cuenta las regulaciones establecidas por la Universidad, y siempre y cuando, esta duplicación no genere ningún tipo de ganancia económica.

Ejerciendo mi derecho como ejecutor del Proyecto de investigación, doy la autorización a la Universidad Técnica de Ambato para la publicación de este informe total o parcialmente.



-----  
Esteban Nicolás Correa Salgado

CI. 1803919396

**APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN:**

FECHA



Firmado electrónicamente por:  
**MARCO OSWALDO  
PEREZ SALINAS**

02/09/2021

-----  
Ing. Mg. Marco Pérez

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



Firmado electrónicamente por:  
**OSCAR  
PATRICIO  
NUNEZ TORRES**

02/09/2021

-----  
Ph.D. Patricio Núñez Torres

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



Firmado electrónicamente por:  
**JORGE RICARDO  
GUERRERO LOPEZ**

02/09/2021

-----  
Ing. Mg. Ricardo Guerrero López

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

## **DEDICATORIA**

A mi familia que siempre me apoyó durante toda mi vida estudiantil y supo guiarme en este camino.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia, quienes me apoyaron durante mi vida universitaria.

A mi amigo Ismael Chávez, por su ayuda y colaboración durante el proceso de titulación.

Agradecimiento especial a la familia Buenaño Palacios en particular a los señores Ángel Efraín Buenaño Araujo (†) y mi buen amigo Mario David Buenaño Palacios, ya que su disposición y colaboración desinteresada con la investigación permitieron la realización de este proyecto.

Reconocimiento al Ing. Gonzalo Aragadvay por cumplir con su labor como docente, compartiendo su conocimiento y siendo un guía indispensable en la ejecución de esta investigación.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

A. PÁGINAS PRELIMINARES .....	ii
APROVACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DERECHOS DE AUTOR.....	iii
APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN: ..	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	x
RESUMEN.....	xi
SUMMARY .....	xii
B. CONTENIDOS.....	1
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO .....	1
1.1. Antecedentes Investigativos.....	1
1.2. Objetivo.....	11
1.2.1. Objetivo General.....	11
1.2.2. Objetivos Específicos .....	11
1.2.3. Hipótesis .....	11
CAPÍTULO II.....	12
METODOLOGÍA.....	12
2.1. Materiales.....	12
2.1.1. Equipos .....	12
2.1.2. Materiales de Campo .....	12
2.1.3. Materiales químicos.....	13
2.1.4. Semovientes.....	13
2.2. Métodos.....	13
2.2.1. Superovulación .....	14
2.2.2. Variables respuesta .....	16
• Cinética folicular (cm/día).....	16
• Citología vaginal de células superficiales (%).....	17

• Niveles de estrógenos en sangre (pg/mL) .....	18
2.2.3. Ubicación del experimento .....	18
2.2.4. Análisis estadístico .....	19
CAPÍTULO III .....	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	20
3.1. Resultados .....	20
3.1.1. Tamaño folicular (cm/día) .....	20
3.1.2. Dinámica folicular (ondas de crecimiento).....	21
3.1.3. Comparación del tamaño folicular (cm), niveles de estrógenos (pg/mL) y células superficiales (%) entre las razas Criolla y Katahdin .....	23
3.1.4. Correlación entre variables estudiadas .....	23
3.1.5. Control semanal de peso (kg) .....	25
3.1.6. Análisis de costos del protocolo de superovulación. ....	25
3.2. Discusión.....	27
3.2.1. Tamaño Folicular (cm/día).....	27
3.2.2. Dinámica Folicular (ondas de crecimiento) .....	28
3.2.3. Comparación de variables entre las razas Criolla y Katahdin .....	29
3.2.4. Correlación entre variables estudiadas .....	31
3.3. Verificación de hipótesis.....	32
CAPÍTULO IV.....	33
4.1. CONCLUSIONES.....	33
4.2. RECOMENDACIONES .....	34
C. MATERIALES DE REFERENCIA .....	35
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	35
ANEXOS .....	40

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Esquema del protocolo de superovulación y monta de los animales. .....	15
<b>Tabla 2.</b> Esquema del experimento. ....	19
<b>Tabla 3.</b> Tamaño 20	
<b>Tabla 4.</b> Prueba t - Student de tamaño folicular (cm), niveles de estrógenos (pg/mL) y células superficiales (%) de diferentes razas de ovejas sometidas a un programa de superovulación .....	23
<b>Tabla 5.</b> Correlación entre tamaño folicular (cm), células superficiales (%) y niveles de estrógenos (pg/mL) de diferentes razas de ovejas sometidas a un programa de superovulación--.....	23
<b>Tabla 6.</b> Peso vivo (kg) de los animales antes del protocolo de superovulación. .....	25
<b>Tabla 7.</b> Análisis de costos del programa de superovulación aplicado en el experimento.....	26

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Dinámica folicular promedio raza Criolla.....	22
<b>Gráfico 2.</b> Dinámica folicular promedio raza Katahdin.....	22
<b>Gráfico 3.</b> Correlación entre <i>variables</i> .....	24
<b>Gráfico 4.</b> Dinámica folicular de la oveja Criolla 001.....	40
<b>Gráfico 5.</b> Dinámica folicular de la oveja Criolla 002.....	40
<b>Gráfico 6.</b> Dinámica folicular de la oveja Criolla 003.....	41
<b>Gráfico 7.</b> Dinámica folicular de la oveja Criolla 004.....	41
<b>Gráfico 8.</b> Dinámica folicular de la oveja Katahdin 908.....	42
<b>Gráfico 9.</b> Dinámica folicular de la oveja Katahdin 932.....	42
<b>Gráfico 10.</b> Dinámica folicular de la oveja Katahdin 936.....	43
<b>Gráfico 11.</b> Dinámica folicular de la oveja Katahdin 937.....	43

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la cinética folicular en ovejas Katahdin y Criolla de Ecuador sometidas a un protocolo de ovulación múltiple y transferencia de embriones (MOET), mediante la utilización de dispositivos intravaginales de progesterona y la aplicación intramuscular en dosis decrecientes de hormona folículo estimulante (FSH) exógena. Los dispositivos de progesterona provocaron un fenómeno de regresión sobre los folículos presentes en los ovarios antes de iniciar el tratamiento, para poder iniciar con el protocolo de superovulación se seleccionaron a los animales que presenten folículos de entre 2 y 3 mm. Los dispositivos actuaron de manera similar a un cuerpo lúteo, la FSH potenció el crecimiento de varios folículos desde la primera aplicación en todos los animales hasta final del tratamiento. La dinámica folicular se evaluó mediante ultrasonografía transrectal diaria, con la ayuda de un transductor lineal adaptado para que su manipulación se la pueda realizar desde el exterior del animal. El día que se presentó el celo de los animales y después de realizar la monta natural de los mismos, se tomaron muestras de sangre para evaluar niveles de estrógenos sanguíneos, y se evaluó la presencia de células correspondientes al estro mediante citologías vaginales, esto antes de la monta para evitar la contaminación de las muestras. Los resultados se sometieron a un análisis estadístico denominado T-student. La comparación de medias se realizó mediante la utilización de la prueba de significancia de TUKEY con una probabilidad de error experimental del 0.05%. Estadísticamente el tamaño folicular presentó diferencias significativas entre ambas razas, siendo superior en la raza Katahdin, también estos animales presentaron un mayor número de folículos, y el celo fue más manifiesto y duradero en las ovejas de esta raza. Los niveles de estrógenos y el porcentaje de células superficiales fueron altos para ambos grupos raciales, que corresponden con la presentación del celo.

**Palabras clave:** *Superovulación, cinética folicular, ovino, ultrasonografía.*

## SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the follicular kinetics in Katahdin and Criolla sheep from Ecuador subjected to a multiple ovulation and embryo transfer protocol (MOET), through the use of intravaginal progesterone devices and intramuscular application in decreasing doses of exogenous follicle stimulant hormone (FSH). The progesterone devices caused a regression phenomenon on the follicles present in the ovaries before starting the treatment. In order to start with the superovulation protocol, the animals with follicles between 2 and 3 mm were selected. The devices acted similar to a corpus luteum; FSH enhanced the growth of several follicles from the first application in all animals until the end of the treatment. Follicular dynamics was evaluated by daily transrectal ultrasonography, with the help of a linear transducer adapted so that its manipulation can be carried out from outside the animal. On the day that the animals were in heat and after mating, blood samples were taken to evaluate blood estrogen levels, and the presence of cells corresponding to estrus was evaluated by vaginal cytology, this before mating to avoid contamination of the samples. The results were subjected to a statistical analysis called T-student. The comparison of means was performed using the TUKEY significance test with a probability of experimental error of 0.05%. Statistically, the follicular size showed significant differences between both breeds, being higher in the Katahdin breed, these animals also had a higher number of follicles, and the heat was more manifest and lasting in the sheep of this breed. Estrogen levels and the percentage of surface cells were high for both racial groups, corresponding to the presentation of heat.

**Key words:** *Superovulation, follicular kinetics, sheep, ultrasonography*

## **B. CONTENIDOS**

### **CAPÍTULO I**

#### **MARCO TEÓRICO**

##### **1.1. Antecedentes Investigativos**

Los pequeños rumiantes son contribuyentes importantes en la producción mundial de alimentos y fibra. En el continuo crecimiento de la economía mundial, los pequeños rumiantes poseen un enfático papel, principalmente para las economías de los países en desarrollo, y en particular, para aquellos con condiciones climáticas adversas, o con tierras subfértiles. La cría estacional de pequeños rumiantes ha fomentado la adaptación de las tecnologías de reproducción asistida (ART), para impulsar avances en la reproducción y mejorar la ganancia genética en estas especies (**Amiridis y Cseh 2012**).

La producción ovina representa una importante fuente de recursos dentro del ámbito de la producción animal, en Ecuador, el sistema de explotación que mayoritariamente es utilizado en la actividad de la ganadería ovina es de tipo extensivo, y se desarrolla bajo un sistema tradicional de crianza, utilizando razas mejoradas (como la Katahdin) y criollas para obtener una mayor productividad (**Moyano et al. 2017**).

El manejo reproductivo en cualquier explotación animal es de vital importancia para alcanzar un modelo sustentable de producción, por esta razón se debe implementar e invertir en tecnologías que puedan aportar en el ámbito reproductivo.

Una de las tecnologías previamente mencionadas es la transferencia de embriones, biotecnología que se basa en la superovulación. En los pequeños rumiantes, la ovulación múltiple y transferencia de embriones (MOET por sus siglas en inglés) es una realidad única. El MOET tiene como objetivo primordial producir una mayor cantidad de crías en un tiempo más corto, con una calidad notable para el rebaño,

aplicando técnicas que permitan una mayor producción de folículos, ovulación y embriones, resultando en una mayor tasa de natalidad en el rebaño ovino (**Maciel et al. 2017**). Esta práctica consiste en provocar a través de tratamientos a base de hormonas una tasa de ovulación elevada en hembras que se conocen como donadoras, para posteriormente, recuperar y transferir los embriones obtenidos a otras hembras de la misma especie con menor valor genético, las cuales actuarán como receptoras para dichos embriones y continuarán con la etapa de gestación (**Simonetti y Forcada 2008**). Los criadores utilizan estas tecnologías reproductivas para acelerar la ganancia genética en los programas de mejoramiento. También, se consigue una mayor intensidad de selección en machos y hembras, lo que permite lograr mayores tasas de ganancia genética (**Granleese et al. 2013**).

Los programas de ovulación múltiple y transferencia de embriones se han vuelto populares y cada vez más accesibles para los productores. Los beneficios son las principales razones que motivan su propagación y entre sus ventajas, está la capacidad de promover una mayor intensidad de selección, un intervalo generacional reducido y lograr un mayor número de progenie de animales genéticamente superiores. Además, proporciona una base técnica para la implementación de otras biotecnologías relacionadas, facilita los procedimientos de comercio (nacional o internacionalmente) de material genético asegurando la salud y preservación de las especies en peligro de extinción. Por otro lado, la principal desventaja del MOET es el costo relacionado con los medicamentos utilizados, la técnica quirúrgica y la criopreservación (**Maciel et al. 2017**)

En Ecuador este tipo de tecnologías se ha implementado hace pocos años, sin embargo, falta mucho por investigar, ya que es una importante actividad en el ámbito reproductivo y que se utiliza para mejorar características productivas en animales de menor valor genético. Resulta importante la investigación de la aplicación de protocolos de superovulación, con estudios detallados de la cinética folicular y sus efectos sobre la producción de embriones, con animales mejorados y con animales propios de la región.

Existe una considerable cantidad de investigaciones que han logrado determinar ciertos factores que aumentan o disminuyen la cantidad de embriones viables que se pueden obtener al implementar esta técnica en un sistema de explotación.

Se han desarrollado diferentes tratamientos de ovulación múltiple, el uso de progestágenos y gonadotropinas se ha catalogado como un protocolo eficiente en programas de superovulación. De igual manera se han desarrollado técnicas de recolección de embriones para la implantación de los mismos en hembras receptoras. Para poder cumplir con estos procedimientos, es necesario implementar un adecuado programa de selección de animales tanto donantes como receptores, esto con el fin de aumentar los índices de superovulación, la obtención de embriones viables y el número de gestaciones a término (**Moreno et al. 1999**)

La aplicación de técnicas de superovulación y transferencia de embriones, se ve afectada por una alta variabilidad en la respuesta ovulatoria al tratamiento hormonal y, por un número bajo y variable de embriones transferibles y descendientes obtenidos (**González et al. 2004**). Esta variabilidad individual impredecible en la respuesta superovulatoria, es el paso más crítico en los programas de producción de embriones de ovinos. Esto se atribuye a una serie de factores endógenos (genética, estado nutricional, estado folicular, estación del año) y exógenos (tratamiento superovulatorio, naturaleza y posible "contaminación" de la gonadotropina). Sin embargo, la contribución de cada factor resulta casi imposible de evaluar (**Amiridis y Cseh 2012**).

Los tratamientos superovulatorios son hoy en día una herramienta importante en los sistemas productivos para obtener mayores tasas de preñez. Los factores que afectan la respuesta superovulatoria están relacionados con la raza, la edad, la nutrición y el estado reproductivo. Además, la genética se ha identificado como un factor que podría contribuir a la variabilidad ovulatoria; en general, las razas prolíficas muestran una mejor respuesta superovulatoria debido a su perfil genético (**Rebolledo et al. 2017**). Variados protocolos hormonales que se han desarrollado para inducir la ovulación

múltiple, no han conseguido reducir la alta variabilidad que se presenta en el número de ovulaciones entre individuos, esto se debe a influencias genéticas, nutricionales o estacionales; de igual manera se considera al factor intrínseco de cada animal como un factor primario en la respuesta al tratamiento de superovulación (**Martínez et al. 2017**).

En el ganado ovino el estado nutricional es un factor determinante en lo que a actividad ovárica se refiere, debido a que determina una respuesta reproductiva eficaz. Por esta razón antes del período de apareamiento, se suele suministrar un suplemento energético para aumentar la fertilidad y prolificidad de un grupo de animales, sin embargo, al aplicar esta metodología en programas de ovulación múltiple la variabilidad de los resultados ha sido amplia y no se ha determinado una respuesta homogénea por parte de los animales (**Navarrete et al. 2008**).

Los extremos de la nutrición (sobrealimentación o alimentación deficiente) pueden aumentar la mortalidad embrionaria o retrasar el desarrollo embrionario en ovejas. **Lozano et al. (2003)** realizaron experimentos para estudiar el efecto de la nutrición en el desarrollo embrionario en dos períodos en ovejas superovuladas, y en la capacidad de desarrollo de los ovocitos durante la fase folicular. Para esto utilizaron grupos de animales a los que se les suministró dietas bajas en energía, dietas de mantenimiento con requerimientos diarios de energía, y dietas altas en energía basadas en alimentación *ad libitum*. Registraron una respuesta de superovulación más baja, y un número menor de embriones de buena calidad en los animales en los que se utilizó la dieta *ad libitum*, aparte se determinó que la nutrición, también modificó la calidad morfológica y funcional de los ovocitos y embriones recuperados. Así, el 92% de los embriones recuperados de las ovejas alimentadas con la dieta de control (mantenimiento), se clasificaron como buenos embriones, en comparación con el 70 y el 82% de los embriones recuperados de las ovejas con dietas *ad libitum* y dietas bajas en energía respectivamente. Así mismo las ovejas alimentadas con la dieta *ad libitum* tuvieron un mayor porcentaje de embriones poco desarrollados en comparación con las ovejas que recibieron la dieta de mantenimiento o las dietas bajas en energía. Por

otro lado, las ovejas alimentadas con la dieta baja en energía tienden a tener una mayor cantidad de ovocitos no fertilizados que las ovejas alimentadas con la dieta de mantenimiento. La respuesta superovulatoria de las ovejas alimentadas con la dieta baja en energía fue similar a la de las ovejas con la dieta de mantenimiento, pero con un mayor porcentaje de fallas en la fertilización, probablemente como resultado de eventos postovulatorios. De manera general determinaron que, cambios en la dieta puede afectar la calidad del ovocito y el embrión en ovejas superovuladas. Una respuesta de superovulación más baja y una disminución en la calidad de los ovocitos y embriones, indican también que, las dietas ad libitum son altamente perjudiciales para programas superovulatorios.

La respuesta ovulatoria bajo la influencia de protocolos hormonales, está sujeta a la variación individual como una de sus principales limitaciones, esto influye directamente en la eficiencia de los programas de superovulación y transferencia de embriones. Se han realizado investigaciones que han determinado que la suplementación con ácidos grasos poli insaturados (oleico, linoeico y linolenico), pueden modificar ciertos procesos fisiológicos en los ovarios de ovinos y bovinos, sin tener en cuenta factores como, el consumo de energía y el peso del animal (**Herrera-Camacho et al. 2008**)

**Herrera-Camacho et al. (2008)** realizaron un experimento que buscaba determinar si la suplementación con ácidos grasos polinsaturados, tenía algún efecto en programas de superovulación en ovejas, específicamente en el número de cuerpos lúteos, células y embriones totales, y la calidad morfológica de los embriones. Para esto utilizaron dos grupos de animales que fueron alimentados con una dieta a base de pasto y concentrado, además al segundo grupo se le adicionó en el concentrado un 4% de aceite de maíz. Los resultados reflejaron que la suplementación con ácidos grasos poli insaturados fue positiva, ya que el número de cuerpos lúteos, células totales y embriones fueron superiores en el grupo al que se le suministró el suplemento. Así mismo hubo un aumento en la cantidad de embriones en estado de mórula con respecto al grupo de animales sin el suplemento. Por otro lado, la calidad morfológica de los

embriones no se vio afectada bajo la utilización del aceite de maíz. Concluyeron que la utilización de productos ricos en ácidos grasos poli insaturado podría ser beneficiosa en programas de superovulación y transferencia de embriones.

Así mismo **Torres-Zapata *et al.* (2016)** realizaron un estudio para evaluar la respuesta superovulatoria, la calidad del embrión y el desarrollo embrionario en ovejas Katahdin que recibieron un suplemento dietético de aceite de palma. Para esto se asignaron diez ovejas para recibir 35 g de aceite de palma y 10 para recibir 70 g de aceite de palma durante 25 días. El día 0, las ovejas se sincronizaron con dispositivos liberadores de progesterona. Desde el día 6 al 9, los donantes fueron superovulados con 200 mg de hormona estimulante del folículo (FSH) en dosis decrecientes cada 12 horas. El día 8, se retiraron los dispositivos y los donantes se aparearon dos veces con carneros fértiles a intervalos de 12 h. Siete días después del apareamiento, los embriones fueron recuperados y evaluados por su estado de desarrollo y grado de calidad (1 = excelente, 2 = bueno, 3 = malo y 4 = degenerado). Además, los días 0, 7 y 15, se tomaron muestras de sangre para determinar las concentraciones de colesterol, triglicéridos, insulina y factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGF-1) en sangre sérica. No se observaron diferencias significativas entre tratamientos en cuanto a respuesta superovulatoria, tasa de ovulación y estructuras embrionarias totales, ni para las concentraciones de colesterol, triglicéridos, insulina e IGF-1. Determinaron diferencias en el número de embriones degenerados, así como una tendencia a una etapa de desarrollo más homogénea en los embriones de ovejas suplementadas con aceite de palma, así como un mayor número de embriones de calidad 1 y un número menor de embriones de calidad 3 y 4. Llegaron a la conclusión de que, en las ovejas suplementadas con aceite de palma, se recuperó un mayor número de embriones con un estado de desarrollo más homogéneo y mejor calidad. Este tipo de suplementación en la preparación de ovejas donantes, puede ser una práctica recomendable que contribuya a mejorar la calidad de los embriones, pero no a la respuesta ovulatoria.

La ovulación múltiple junto con la transferencia de embriones es una herramienta poderosa para la mejora genética en la producción animal, mediante la introducción o

difusión de razas o genotipos seleccionados con un valor superior. Se conoce que el número de embriones transferibles obtenidos después del tratamiento de superovulación con hembras donantes, depende del crecimiento folicular al inicio del tratamiento hormonal, la respuesta ovulatoria a las gonadotrofinas exógenas y la viabilidad de los embriones recuperados, sin embargo es necesario tener cuenta que la respuesta ovárica al tratamiento superovulatorio, está altamente influenciada por la variabilidad individual, determinada por características genéticas de los animales donadores (**Galarraga et al. 2014**).

La genética se identificó tempranamente como un factor que puede contribuir a la variabilidad ovulatoria y, como regla general, las razas prolíficas muestran mejores respuestas superovulatorias. Sin embargo, las diferencias entre razas prolíficas y no prolíficas no son tan significativas. Por el contrario, se ha descrito una mayor variabilidad entre individuos de la misma raza (**González et al. 2004**)

**Bari et al. (1999)** realizaron un estudio para investigar los factores que afectan el éxito de la ovulación múltiple y la transferencia de embriones en ovejas de raza Scottish Blackface y Welsh Mountain, durante un período de 2 años, utilizando un procedimiento laparoscópico para la recuperación y transferencia de embriones. La superovulación se indujo con FSH ovina y con la utilización de dispositivos intravaginales de progesterona, con un 98 a 100% de las ovejas de ambas razas respondiendo al tratamiento. Se determinó que ni el número medio de embriones ni el porcentaje medio de embriones transferibles por oveja donante, difirieron entre razas o años. Sin embargo, se observó una relación negativa significativa entre el momento de inicio del estro y tanto la respuesta superovulatoria como el número de embriones recuperados, determinaron como un factor importante al tiempo que transcurre entre el retiro del dispositivo de progesterona y la presentación del estro. Obteniendo embriones con una calidad menor cuando el estro se presenta antes de las 19 horas o después de las 30 horas, y embriones con una menor proporción de degeneración o infertilidad en un rango medio de tiempo.

**Rebolledo et al. (2017)** realizaron una investigación cuyo objetivo fue evaluar el estado folicular ovárico definido por las poblaciones foliculares en el ovario antes de un tratamiento de estimulación superovulatoria, y establecer una correlación entre el estado folicular ovárico y el nivel de respuesta a un tratamiento superovulatorio. El estado folicular ovárico se evaluó mediante ecografía en tiempo real. Utilizaron ovejas de las razas Dorper, Pelibuey, Katahdin y Blackbelly para determinar diferencias en los resultados finales. Los resultados de las ovejas incluidas en el estudio presentaron una correlación positiva entre los folículos observados en la ecografía con los cuerpos lúteos observados en la endoscopia el día de la recolección. También se determinó una mejor respuesta al tratamiento en ovejas Dorper ya que se evidenció un mayor número de cuerpos lúteos. Llegaron a la conclusión de que existe una correlación positiva entre el estado del ovario previo al tratamiento superovulatorio y la respuesta ovárica, y que, las ovejas de raza Dorper presenta una respuesta superovulatoria mayor que ovejas de raza Katahdin, Blackbelly y Pelibuey.

Se ha reportado una relación antagonista entre la producción de leche y la reproducción en varias especies de ganado. **Merai et al. (2017)** realizaron un estudio para determinar si el mérito genético para la producción de leche en ovejas lecheras, afecta las respuestas a la superovulación, el rendimiento embrionario y la calidad de embriones. Para esto se utilizó un grupo de ovejas homogéneas por edad, paridad y etapa de lactancia. Las ovejas fueron estratificadas como de alta producción o de baja producción basado en su mérito genético para la producción de leche. Se aplicó un protocolo de superovulación a base de dispositivos de progesterona intravaginales y FSH porcina. La recuperación quirúrgica del embrión se realizó el día 8 después de la inseminación artificial. Reportaron que las ovejas de alta producción presentaron un número menor de cuerpos lúteos en relación a las ovejas de menor producción, también, el número de embriones obtenidos fue mayor en animales de baja producción, sin embargo, no obtuvieron diferencias entre las ovejas en ambos grupos genéticos en cuanto a la calidad de los embriones recolectados. En esta investigación, se demostró por primera vez que, genéticamente, las ovejas superiores para la producción de leche tienen una menor respuesta a la superovulación y tienden a producir una menor cantidad de embriones en relación a ovejas de la misma raza, pero con producciones

menores de leche. Estos hallazgos requieren una consideración total en la ovulación múltiple de ovejas y programas de transferencia de embriones en los que un aumento en de la eficiencia reproductiva de la hembra es esencial.

Debido a que la recolección de embriones es inevitablemente realizada por técnicas quirúrgicas (laparotomía o laparoscopia), la predicción de la respuesta superovulatoria es de gran importancia, porque permitirá la exclusión de operaciones sin objetivo, que son costosas e interfieren con el bienestar animal. Por esta razón la ultrasonografía, podría ser concluyente si se lleva a cabo a modo de seguimiento durante la fase folicular, o contando el número de los cuerpos lúteos formados (**Amiridis y Cseh 2012**).

**Veiga et al. (2005)**, realizaron una investigación para determinar la influencia del estado ovárico previo, en la ovulación y el desarrollo embrionario después de aplicar tratamientos superovulatorios en ovinos, para esto utilizaron un total de 64 animales y observaron que la tasa de ovulación se relaciona positivamente con aquellos folículos que miden de 2–3 mm. Sin embargo, el número total de embriones y su viabilidad, se relacionan específicamente con una categoría más limitada de folículos de 3 mm, mientras que en los folículos de 2 mm se relacionaron a una mayor tasa de degeneración embrionaria.

La presencia de un cuerpo lúteo al comienzo del tratamiento superovulatorio ejerce un efecto protector sobre la viabilidad embrionaria, disminuyendo la degeneración de embriones (**Veiga et al. 2005**).

La variabilidad individual de la respuesta a la aplicación de un tratamiento superovulatorio a base de hormonas, está determinada por el estatus fisiológico del ovario al momento de iniciar con el protocolo, la cantidad de folículos pequeños (1 a 2 mm) es un factor importante que determinará la eficacia del tratamiento hormonal con FSH (**Martínez et al. 2017**).

El estudio de la fisiología ovárica mediante ultrasonografía transrectal en vacas muestra que la respuesta superovulatoria se ve afectada si hay un folículo dominante en el momento de iniciar el tratamiento con gonadotropinas. De manera similar, se ha demostrado que la eliminación de un folículo dominante en la vaca es seguida por la reanudación inmediata del crecimiento de folículos pequeños, lo que indica que el folículo grande individual inhibe el desarrollo de folículos más pequeños. Algunos estudios indican que, en las ovejas, como en las vacas, la presencia de un folículo grande incide en la respuesta superovulatoria, esto fue el objeto de estudio de esta investigación. Se observaron diferencias en la respuesta al tratamiento superovulatorio cuando los animales se agruparon según la presencia o ausencia de folículos grandes ( $\geq 4$  mm) el día de la administración de eCG (gonadotropina coriónica equina). La calidad de la respuesta superovulatoria, medida como el porcentaje de cuerpos lúteos normales en la respuesta ovárica total, fue claramente mayor en animales que no tenían folículos grandes en el momento de la administración de eCG. Los resultados demuestran que, como ocurre en la vaca, la presencia de un gran folículo en el momento de la administración de gonadotropina afecta la respuesta superovulatoria en la oveja (**Rubianes *et al.* 1995**).

Se ha evidenciado mediante estudios de ecografía y endoscopía ovárica que la presencia de folículos con un diámetro mayor a 6 mm influye negativamente en los resultados de tratamientos de ovulación múltiple, por otro lado, cuando estos folículos presentan un diámetro de entre 2 y 3 mm los resultados cambian positivamente, aumentando la cantidad de embriones viables por cada animal, a pesar de esto, es necesario tomar en cuenta el factor de la variabilidad individual en los resultados finales de este tipo de protocolos (**Martínez *et al.* 2017**).

Consecuentemente resulta importante el estudio específico de la cinética folicular como un componente significativo en programas de superovulación y transferencia de embriones, ya que como vimos anteriormente se debe tomar en consideración el tamaño de los folículos en relación al número de embriones viables que se espera

obtener. De igual manera el factor genético tiene relevancia en los resultados de los programas reproductivos mencionados y por esta razón resulta interesante el uso de animales criollos y mejorados que habitan en ambientes reales en el medio local.

## **1.2.Objetivo**

### **1.2.1. Objetivo General**

- Evaluar el efecto de la superovulación sobre la cinética folicular en ovejas de raza Katahdin y Criollas de Ecuador.

### **1.2.2. Objetivos Específicos**

- Aplicar un protocolo de superovulación a base de gonadotrofinas y progesterona, sobre ovejas de raza Katahdin y Criollas de Ecuador.
- Analizar la cinética folicular por medio de ultrasonografía rectal diaria en ovejas de raza Katahdin y Criollas de Ecuador, sometidas a un protocolo de superovulación.
- Realizar un análisis de costos de la aplicación de un programa de superovulación para transferencia de embriones en ovejas de raza Katahdin y Criollas de Ecuador.

### **1.2.3. Hipótesis**

**H1:** La cinética folicular bajo protocolos de superovulación difiere entre las razas Katahdin y Criolla.

## **CAPÍTULO II**

### **METODOLOGÍA**

#### **2.1. Materiales**

##### **2.1.1. Equipos**

- Rasuradora
- Báscula electrónica (cap. 100 kg; 10 g)
- Ecógrafo lineal SIUI CTS-900V NEO 7,5 MHz
- Microscopio trinocular Motic BA210
- Fonendoscopio
- Termómetro rectal

##### **2.1.2. Materiales de Campo**

- Comederos
- Bebederos
- Guantes ginecológicos
- Guantes de examinación
- Jeringas estériles desechables (5 ml)
- Agujas de 23 GX11/4'' (color celeste)
- Hisopos de mango largo estériles
- Portaobjetos
- Tubos vacutainer
- Cinta taípe
- Torundas de algodón
- Tupo PVC

### 2.1.3. Materiales químicos

- Hormona folículo estimulante FSH (Folltropin)
- Dispositivo de progesterona
- Gel lubricante
- Clorhexidina
- Kit de tinción Diff Quick

### 2.1.4. Semovientes

- 4 ovejas Criollas
- 4 ovejas Katahdin
- 2 carneros reproductores

## 2.2. Métodos

El experimento constó de varias actividades. La primera fue la adquisición de 4 hembras de raza Katahdin, 4 hembras criollas y dos machos reproductores; luego pasaron por un periodo de adaptación de 15 días, en donde se desparasitaron con ivermectina a dosis de 200 ug/kg (**Donald C. Plumb 2006**) y se suministró un complejo vitamínico. Se seleccionaron los ejemplares que presentaban homogeneidad en características físicas (condición corporal, peso, tamaño). Durante el experimento los animales permanecieron en campo abierto y su alimentación fue a base de pastoreo, los pastos presentes en su espacio fueron raygrass perenne (*Lolium perenne*), alfalfa (*Medicago sativa*), trébol blanco (*Trifolium repens*) y kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). Adicionalmente se suministró sales minerales y tenían agua a disposición en el área de los potreros. Durante este periodo también se llevó un control de pesos semanal, ya que el factor nutricional es importante en programas de superovulación.

Una vez concluido el período de adaptación se realizó un examen del estado de salud general de los animales; para esto se midieron constantes fisiológicas, y se puso énfasis en la salud reproductiva, mediante un examen ginecológico por ultrasonografía en el que se descartó preñez y se evaluó el estado fisiológico de los ovarios. Para poder iniciar con el protocolo de ovulación múltiple se seleccionaron a los animales que presentaban folículos pequeños de entre 2 y 3 mm ya que según **Martínez et al. (2017)** cuando el ovario presenta este tamaño de folículos la eficacia del tratamiento aumenta. Por otro lado, se descartaron para el inicio del tratamiento a los animales que presentaban folículos grandes de entre 4 y 6 mm ya que la presencia de este tamaño de folículos resulta contraproducente (**Rubianes et al. 1995**). Los animales descartados, se sometieron contantemente a chequeos ginecológicos hasta que el tamaño de los folículos sea el correcto. Así pues, el total de animales se dividió en 3 grupos de trabajo. Dos de 3 animales y uno de 2 animales.

Posteriormente se procedió a la aplicación de los tratamientos para sincronización y superovulación, definidos por (**Mejía Villanueva Octavio 2018**).

### **2.2.1. Superovulación**

El tratamiento de superovulación se resume en la utilización de un implante de progesterona intravaginal y aplicación en dosis decrecientes de hormona folículo estimulante FSH (Folltropin®), para que se dé el desarrollo de una mayor cantidad de folículos durante un ciclo reproductivo.

De esta manera el tratamiento inició en el día uno con la aplicación del dispositivo de progesterona. El mecanismo de acción del dispositivo se basa en la liberación y absorción en la mucosa vaginal de progesterona, esta alcanza la cantidad necesaria

para detener la liberación hipofisiaria de gonadotrofinas (hormona luteinizante LH y hormona folículo estimulante FSH) y así, evitar la ovulación y presentación del celo natural. Una vez que se retira el dispositivo de progesterona, la cantidad de esta en el organismo decae en menos de 6 horas, en un lapso de 30 a 90 horas se puede determinar la presencia del celo en los animales (Zoetis 2019).

El dispositivo se mantuvo durante 12 días en los animales, sin embargo, la aplicación de FSH empezó en el día 10 utilizando 2 ml de Folltropin equivalente a 40 mg de FSH por vía intramuscular, se utilizaron 8 aplicaciones en dosis decrecientes cada 12 horas durante cuatro días, al día 12 se retiró el dispositivo de progesterona, y al día 13 se aplicaron las dos últimas dosis de FSH. Para el día 13 se dio la presentación de celo y se procedió a dar monta natural a las hembras tanto en la mañana como en la tarde durante 48 horas. En la tabla 1 se detalla el esquema del protocolo de superovulación utilizado durante el experimento.

**Tabla 1.** Esquema del protocolo de superovulación y monta de los animales.

<b>Días del protocolo superovulatorio</b>					
1	10	11	12	13	14
			Aplicación de dosis decreciente de FSH	Detección de celo y monta.	Monta natural en la mañana y en la tarde
Aplicación de dispositivo de progesterona CIDR	Aplicación de dosis decreciente de FSH 2 ml AM 1.5 ml PM	Aplicación de dosis decreciente de FSH 1.5 ml AM 1.5 ml PM	1.5 ml AM 1 ml PM Mas retiro del dispositivo intravaginal	Aplicación de dosis decreciente de FSH 0.5 ml AM 0.5 ml PM	

### 2.2.2. Variables respuesta

- **Cinética folicular (cm/día)**

La cinética o dinámica folicular se describe como la presencia de ondas foliculares que muestran un desarrollo sincrónico de un grupo de folículos que se denominan folículos en emergencia, inicialmente, todos estos folículos incrementan su tamaño durante una fase de crecimiento común, posteriormente se diferencia un solo folículo dominante que continúa su desarrollo y al mismo tiempo, múltiples folículos de menor tamaño cesan su crecimiento en una fase estática (**Peter et al. 2009**).

Durante el tiempo que duró el tratamiento superovulatorio se evaluó la cinética folicular tanto en las hembras criollas como en las de raza Katahdin, y se determinó diferencias entre las dos líneas genéticas, para esto, se registró diariamente mediante ultrasonografía transrectal, el crecimiento, maduración y regresión folicular en cada uno de los animales a lo que se les aplicó el tratamiento de superovulación, este proceso se realizó por las mañanas antes que los animales salgan al pastoreo (**Regueiro et al. 1999**). **Rangel y Hernández (2018)** mencionan que, para realizar una ecografía transrectal en rumiantes menores, es necesario un transductor lineal de 7.5 MHz junto con un adaptador que permita la manipulación del mismo desde la parte exterior. Es importante mencionar que este procedimiento se debe realizar con mucho cuidado, evitando movimientos bruscos por parte del animal, ya que se puede provocar daño en la mucosa rectal y en ciertos casos puede existir perforaciones. Se utilizó un ecógrafo portátil SIUI CTS-900V NEO con una sonda lineal. Se realizó una adaptación de la sonda mediante un tubo PVC y cinta adhesiva, para mantener fijo el transductor al momento de la ecografía y poder manipularla desde afuera.

Una vez cumplido el tiempo del tratamiento de superovulación se determinó la presentación del celo, se procedió a dar monta de forma natural durante dos días e, inmediatamente después de la primera monta, se tomaron muestras de sangre para evaluar niveles de estrógenos y también se realizaron citologías vaginales.

- **Citología vaginal de células superficiales (%)**

Las citologías vaginales se utilizan para caracterizar estados del ciclo reproductivo de la hembra, su principio se basa en la influencia de diversas hormonas sexuales sobre las células epiteliales, estas hormonas promueven eventos como la proliferación, diferenciación y muerte celular que se observan mediante citología vaginal exfoliativa (**Ovando et al. 2013**).

Durante la fase estral del ciclo reproductivo la hembra presenta receptividad hacia el macho, el epitelio vaginal en esta etapa aumenta de manera significativa su espesor, esto se debe al crecimiento de una capa sobresaliente de células queratinizadas desde la superficie tisular. De manera histológica esta fase está determinada por un cien por ciento de células cornificadas. Del total de células cornificadas, la mitad son células escamosas anucleadas, ocasionalmente se puede observar también bacterias y glóbulos rojos (**Root 2012**).

La citología vaginal se realizó mediante la técnica descrita por **Tirado (2018)**, para esto se introduce un hisopo estéril al interior de la vagina, tomando muestras de todos los lados de la pared vaginal, posteriormente, sobre un portaobjeto limpio, se realiza un frotis. De manera inmediata se realiza la tinción de la placa, utilizando la solución tintorial Diff Quick. La técnica de tinción de Diff Quick es una técnica simple y eficiente que se compone de 3 soluciones, la primera actúa como fijador y se la realiza con metanol, la segunda tiñe de color rojo proteínas básicas y se la realiza con un colorante aniónico eosina (colorante acidofílico) , y la tercera tiñe el ADN celular de color azul y se la realiza con azul de metileno (colorante

basófilo) o derivados de este (Mallma y Percy 2019). La tinción se realiza de la siguiente manera, se debe sumergir tres veces contiguas el portaobjetos en un recipiente con la solución de fijación. La placa debe permanecer sumergida 30 segundos, posteriormente se debe escurrir de manera vertical el portaobjetos sobre una base de papel de filtro; se procede de la misma forma manera con las soluciones 1 y 2, posteriormente, se lava la placa de manera indirecta con agua corriente durante 10 segundos, se deja secar la placa y finalmente se observa en el microscopio.

- **Niveles de estrógenos en sangre (pg/mL)**

Los niveles de estrógenos se evaluaron mediante exámenes de laboratorio, para lo cual se tomaron muestras de sangre de la vena yugular el día de la monta y se midieron los niveles circulantes de  $17\beta$  estradiol. Burns *et al.* (2005) mencionan que los niveles de estrógenos presentes en sangre son los encargados de determinar las concentraciones séricas de estradiol, tales concentraciones se ven reflejadas en el crecimiento del folículo o folículos en cada ola, estas tienen un aumento significativo que ocurre alrededor del final del crecimiento folicular. Es necesario mencionar que los exámenes de laboratorio no se pudieron realizar en su totalidad en el tiempo establecido, que era el día de la monta de los animales, debido a la suspensión de servicios por la emergencia sanitaria. Por esta razón, se tuvo que almacenar las muestras durante el tiempo que no hubo atención. Se toma en cuenta como un factor en el análisis de los resultados relacionados a los niveles de estrógenos.

### **2.2.3. Ubicación del experimento**

El experimento se llevó a cabo en una propiedad en la comunidad Cruz de Mayo, en el cantón Mocha de la provincia de Tungurahua, con las coordenadas geográficas  $1^{\circ}25'58.7''S$   $78^{\circ}36'41.0''W$  (Google 2020), y a una altitud de 3 000

msnm. En el cantón se presentan variaciones pronunciadas de clima puesto que su altitud va desde los 2 500 hasta los 4 965 msnm (GAD Mocha 2020).

#### 2.2.4. Análisis estadístico

Para el desarrollo del experimento se utilizó dos grupos de animales (raza Katahdin y Criolla) cuyos resultados se sometieron a un análisis estadístico denominado T-student. La comparación de medias se realizó mediante la utilización de la prueba de significancia de TUKEY con una probabilidad de error experimental del 0.05%. Los datos obtenidos fueron analizados mediante el programa estadístico SPSS. V2017.

Además, se realizó un estudio de correlación de Pearson entre variables como citología vaginal con niveles sanguíneos de estrógenos y tamaño folicular con niveles sanguíneos de estrógenos. En la tabla 2 se explica el esquema del experimento.

**Tabla 2.** Esquema del experimento.

Grupos experimentales		
	Grupo 1: Katahdin	Grupo 2: Criolla
Repeticiones	R1	R1
	R2	R2
	R3	R3
	R4	R4

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Resultados

El número total de folículos registrados al concluir con el programa de superovulación fue de 28 y 30 para las razas Criolla y Katahdin respectivamente. A pesar de no ser una diferencia marcada entre las 2 razas se pudo observar una respuesta ovárica al tratamiento superovulatorio y cierta superioridad en la raza Katahdin. A continuación, se detalla los resultados de las variables que se tomó en cuenta para el experimento como son la dinámica folicular, los niveles de estrógenos, y las citologías vaginales. También se realizaron pruebas correlación entre variables (tamaño folicular con niveles de estrógenos y porcentaje de células superficiales con los niveles de estrógenos).

##### 3.1.1. Tamaño folicular (cm/día)

El tamaño folicular fue medido diariamente, las ovejas de raza Katahdin presentaron un mayor crecimiento folicular durante el programa de superovulación, de igual manera el número total de folículos fue mayor para esta raza. En la tabla 3 se detalla el tamaño de cada folículo producido por cada oveja.

**Tabla 3.** Tamaño folicular (cm)

<b>Tamaño folicular (cm)</b>								
<b>Animales</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>	<b>F5</b>	<b>F6</b>	<b>F7</b>	<b>F8</b>
<b>Ovejas Criollas</b>								
C001	0.24	0.30	0.33	0.33	0.31	0.29	0.29	
C002	0.45	0.44	0.40	0.39	0.40	0.32	0.27	
C003	0.35	0.31	0.31	0.28	0.36	0.34	0.34	
C004	0.47	0.47	0.40	0.48	0.49	0.41	0.41	

### Ovejas Katahdin

K908	0.58	0.39	0.27	0.3	0.45	0.4	0.36	0.32
K932	0.48	0.50	0.57	0.35	0.51	0.47	0.48	
K936	0.59	0.59	0.60	0.50	0.63	0.43	0.43	
K937	0.53	0.51	0.47	0.44	0.62	0.58	0.58	0.53

El tamaño folicular corresponde al día 13 del tratamiento superovulatorio que fue cuando los animales presentaron el celo y recibieron monta natural.

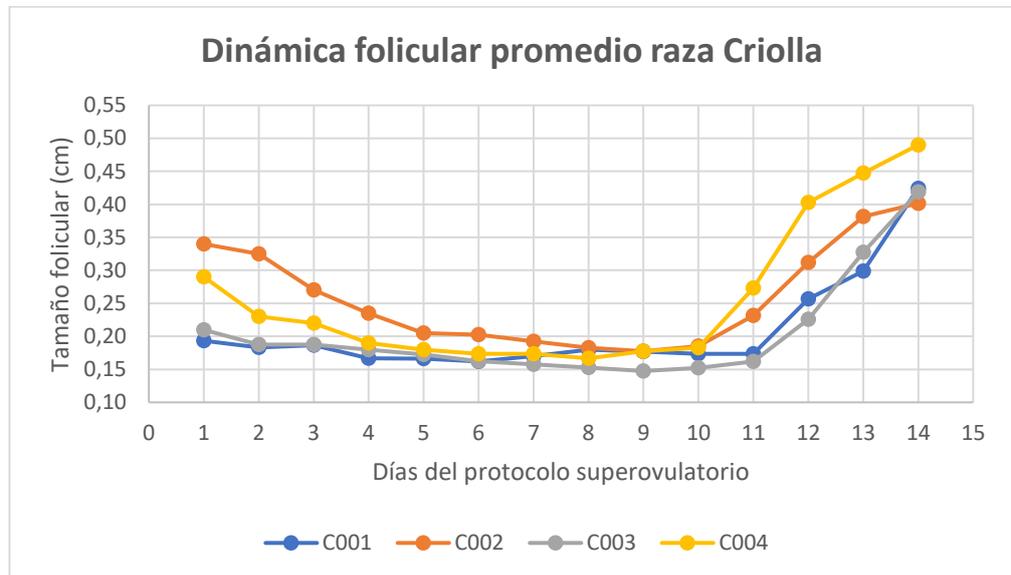
#### 3.1.2. Dinámica folicular (ondas de crecimiento)

La dinámica folicular se registró midiendo el tamaño folicular diario, mediante ultrasonografía rectal, durante el tiempo que se aplicó el tratamiento de superovulación.

De manera general en ambas razas se obtuvo la misma dinámica representada por dos ondas de crecimiento, en las que se produjo un recambio o generación de una nueva onda folicular, este fenómeno está relacionado con la presencia o ausencia de folículos de gran tamaño. El folículo o folículos presentes en el ovario sufren un proceso de atresia inducido por el dispositivo de progesterona, después de extraerlo, se genera una nueva onda de crecimiento folicular. Gracias a la aplicación de la hormona folículo estimulante este proceso final se ve potenciado permitiendo el crecimiento de varios folículos dominantes.

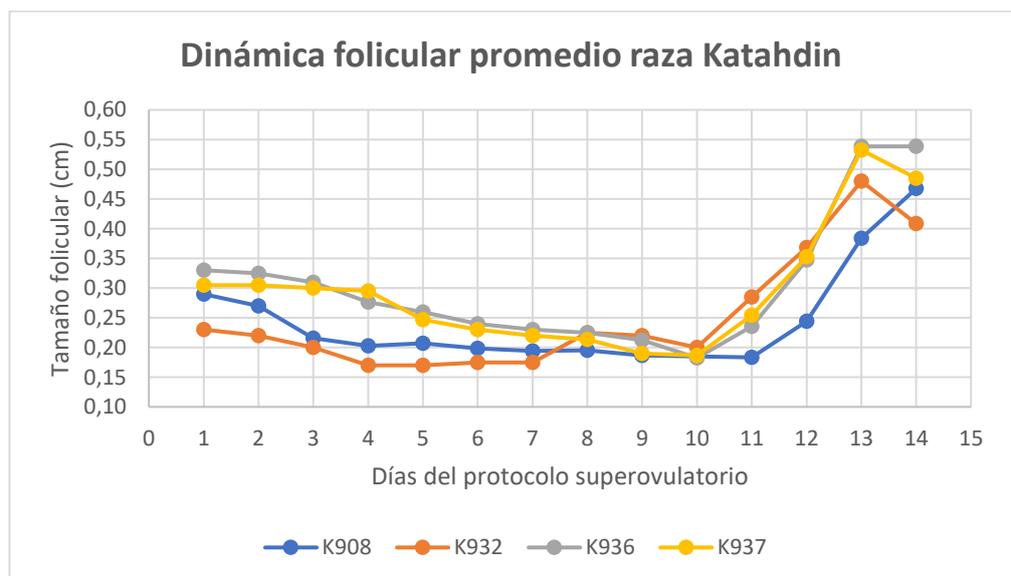
En los gráficos 1 y 2 se muestra la dinámica folicular promedio de las razas Criolla y Katahdin respectivamente. En los anexos se muestra el gráfico de la dinámica folicular de cada folículo de todos los animales de ambas razas. Las letras C y K en los gráficos representan a las razas Criolla y Katahdin, los números junto a las letras representan a cada animal de cada grupo racial. Todos los animales están determinados por un color diferente.

**Gráfico 1.** Dinámica folicular promedio raza Criolla.



La dinámica folicular se representa en los 14 días que duró la aplicación del tratamiento de superovulación, cada color indica la dinámica de cada animal de la raza Criolla.

**Gráfico 2.** Dinámica folicular promedio raza Katahdin



La dinámica folicular se representa en los 14 días que duró la aplicación del tratamiento de superovulación, cada color indica la dinámica de cada animal de la raza Katahdin.

### 3.1.3. Comparación del tamaño folicular (cm), niveles de estrógenos (pg/mL) y células superficiales (%) entre las razas Criolla y Katahdin

En la tabla 4 se detallan los datos estadísticos en la comparación entre razas. La única variable que mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p= 0.000$ ) fue el tamaño folicular, esto indicó que el crecimiento folicular en la raza Katahdin fue mayor durante el experimento, sin embargo, las demás variables no presentaron diferencias significativas, a pesar de esto se registraron valores altos tanto en el porcentaje de células superficiales como en los niveles de estrógenos.

**Tabla 4.** Prueba t - Student de tamaño folicular (cm), niveles de estrógenos (pg/mL) y células superficiales (%) de diferentes razas de ovejas sometidas a un programa de superovulación

Variables	Raza Ovina		p-valor	E.E
	Criolla	Katahdin		
Tamaño folicular (cm)	0.36 <sup>a</sup>	0.48 <sup>b</sup>	0.000	0.02
Niveles de E2 (pg/mL)	119.44 <sup>a</sup>	145.82 <sup>a</sup>	0.262	21.31
Células superficiales (%)	80.3 <sup>a</sup>	79.05 <sup>a</sup>	0.806	4.86

<sup>a,b</sup> : Letras distintas en las filas muestran significancia estadística.  $P<0,05$

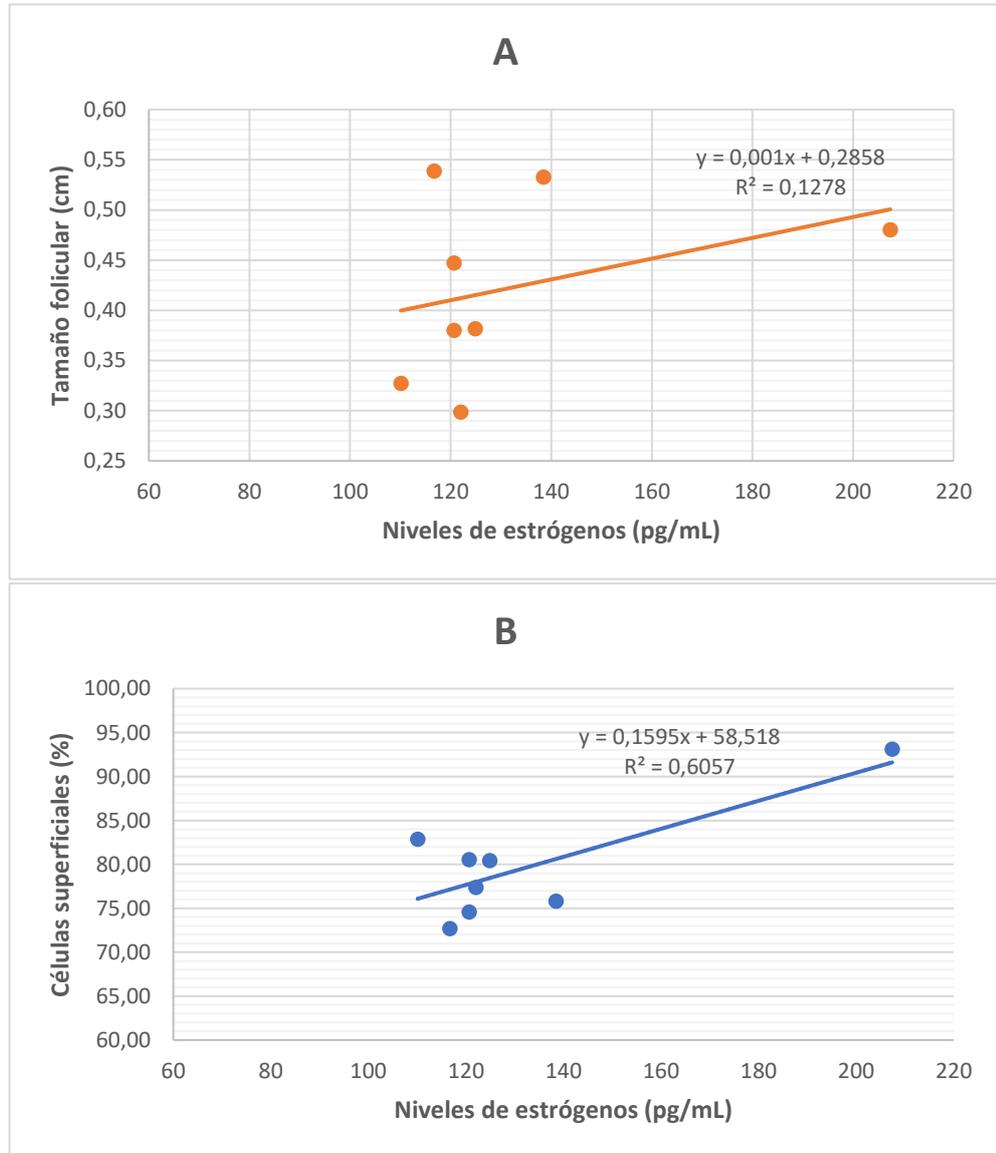
### 3.1.4. Correlación entre variables estudiadas

El valor de correlación entre las variables tamaño folicular y niveles de estrógenos fue de 0.353, lo que indica una correlación baja. Por otro lado, el valor de correlación entre células superficiales y niveles de estrógenos es de 0.778, lo que indica una correlación alta.

**Tabla 5.** Correlación entre tamaño folicular (cm), células superficiales (%) y niveles de estrógenos (pg/mL) de diferentes razas de ovejas sometidas a un programa de superovulación

VARIABLES	Nivel de estrógenos sanguíneo	
	R	p-valor
Tamaño folicular (cm)	0.353	0.391
Células superficiales (%)	0.778	0.023

**Gráfico 3.** Correlación entre variables estudiadas



(A) Correlación entre tamaño folicular y niveles de E2 en color naranja, se observa una mayor dispersión por la correlación de nivel bajo. (B) Correlación entre células superficiales y niveles de estrógenos en color azul con una menor dispersión por la correlación de nivel alto.

### 3.1.5. Control semanal de peso (kg)

Antes de iniciar con el programa de superovulación las ovejas pasaron por un tiempo de adaptación para obtener la homogeneidad de pesos en ambas razas. En la tabla 6 se detallan los pesos semanales de los animales.

**Tabla 6.** Peso vivo (kg) de los animales antes del protocolo de superovulación.

Animales	Peso vivo semanal (kg)			
	S1	S2	S3	S4
<b>Ovejas Criollas</b>				
C001	22.6	26.2	27.7	29.9
C002	28.4	28.2	28.3	28.5
C003	28.5	30.4	33.0	33.4
C004	26.6	28.1	29.9	30.8
<b>Ovejas Katahdin</b>				
K908	34.8	35.2	35.3	35.6
K932	28.6	29.8	31.04	34.6
K936	27.02	27.1	28.87	30.1
K937	35.7	37.2	37.4	37.6

El peso fue tomado semanalmente antes de iniciar con el protocolo de superovulación para evitar estrés en los animales.

### 3.1.6. Análisis de costos del protocolo de superovulación.

En la tabla 7 se observa el análisis de costos del programa de superovulación aplicado en el experimento a razón de determinar el costo por unidad ovina superovulada, estableciéndose como referente para futuras investigaciones.

Los insumos corresponden a los materiales utilizados para aplicar los medicamentos a los animales, la materia prima consta de todos los fármacos utilizados para poder provocar la superovulación en las ovejas, los gastos de movilidad implican un periodo de 15 días, correspondientes al tiempo de duración de un protocolo de superovulación, los gastos de personal están basados en datos del salario mínimo para un profesional veterinario según el **Ministerio del Trabajo Ecuador (2020)**, (15 días), los gastos variables representan el 10% de los gastos totales. Hay que tomar en cuenta que no se llevó un control exacto del consumo de alimento, ya que los animales permanecieron en pastoreo, por lo tanto, no se tomaron en cuenta estos valores.

El análisis de costos se realizó en base a la aplicación de un protocolo de ovulación múltiple en una unidad ovina, cuyo costo final fue de 350 USD. Este valor se fracciona en: insumos (1.43%), materias primas (29.14%), movilidad (21.43%), gastos de personal (11.64 %), gastos variables (6.36%), costos fijos (11.43%) y beneficio neto total (18.57 %).

**Tabla 7.** Análisis de costos del programa de superovulación aplicado en el experimento

CONCEPTO		PRODUCTO	TOTAL
<b>Programa de superovulación</b>	U	1	1
<b>Costo por programa</b>	V	\$ 350.00	\$ 350.00
<b>Precio de venta unitario</b>	$P=V/U$	\$ 350.00	
<b>Costos variables</b>			
<b>Insumos</b>		\$ 5.00	\$ 5.00
<b>Materias primas</b>		\$ 102.00	\$ 102.00
<b>Movilidad</b>		\$ 75.00	\$ 75.00
<b>Gastos de personal (SM\$434.47/15 días)</b>		\$ 40.73	\$ 40.73
<b>Otros gastos variables</b>		\$ 22.27	\$ 22.27
<b>Total Costos Variables</b>	CV	\$ 245.00	\$ 245.00

<b>Costo variable unitario</b>	$CVU=CV/U$	\$ 245.00	
<b>Margen de beneficio bruto</b>	$M=V-CV$	\$ 105.00	\$ 105.00
<b>Margen de beneficio unitario</b>	$MU=M/U$	\$ 105.00	
<b>Costos fijos</b>	CF		\$ 40.00
<b>Beneficio neto total</b>	$B=M-CF$		\$ 65.00

### 3.2. Discusión

#### 3.2.1. Tamaño Folicular (cm/día)

Para todos los animales tanto de la raza Criolla como de la Katahdin se inició con el tratamiento de superovulación a partir de la presencia de folículos pequeños de entre 2 y 3 mm y la ausencia de folículos grandes ( $\geq 4$  mm). Esto se tomó en cuenta ya que varias investigaciones reportan mejores resultados bajo estos parámetros. Como indican **Martínez *et al.* (2017)** y **Veiga *et al.* (2005)**, la cantidad de folículos pequeños es un factor importante que determinará la eficacia del tratamiento hormonal con FSH.

Para ambas razas el crecimiento fue similar en cuanto a la dinámica, primero hubo una atresia folicular y después un crecimiento notorio a partir de la aplicación de FSH, como mencionan **González *et al.* (2002)** cuando se utiliza FSH en protocolos de ovulación múltiple, administrando el medicamento cada 12 horas en dosis decrecientes, la cantidad de folículos en el ovario de las ovejas se ve afectada en un tiempo de 12 a 24 horas desde el inicio la aplicación. A partir de esto y hasta las 48 horas, se produce un marcado crecimiento de folículos con diámetros que van desde los 2 mm hasta alcanzar los 5 mm. Sin embargo, los animales de la raza Katahdin presentaron un mayor crecimiento folicular con la aplicación del tratamiento de superovulación alcanzando folículos de 6 mm de diámetro, en comparación a los animales de la raza Criolla, que alcanzaron un tamaño máximo de 4.9 mm de diámetro. De la misma manera, la cantidad total de folículos contabilizados al final del

tratamiento de superovulación fue de 28 para la raza Criolla y 30 para la raza Katahdin, aunque son diferencias no muy marcadas, indican cierta superioridad por parte de la raza Katahdin en la respuesta al tratamiento de ovulación múltiple. Cabe recalcar que no se ha tomado en cuenta el número total de embriones ni la viabilidad de los mismos, solo el número de folículos.

### **3.2.2. Dinámica Folicular (ondas de crecimiento)**

La dinámica folicular se caracterizó al inicio por un fenómeno de una atresia folicular a partir de folículos de 2 o 3 mm de diámetro medidos antes de iniciar con la aplicación del dispositivo de progesterona. La progesterona tiene un efecto de retroalimentación negativa en la liberación de GnRH y gonadotropinas, esto provoca una inhibición del desarrollo de los folículos y por ende impide la ovulación, por esta razón durante la fase lútea de un ciclo reproductivo y también durante la gestación no se producen ovulaciones (**Rangel y Hernández 2018**). El dispositivo de progesterona favoreció el proceso de atresia folicular al actuar de manera similar a la presencia de un cuerpo lúteo.

Esta disminución del tamaño folicular se evidenció hasta la primera aplicación de FSH, a partir de esto varios folículos en ambos ovarios de todas las ovejas bajo tratamiento, empezaron a aumentar su tamaño de forma considerable, esto coincide con lo indicado por **González et al. (2002)**, mencionan que, el tamaño de los folículos de ovejas sometidas a programas de ovulación múltiple basados en la aplicación de FSH exógena, aumentan gradualmente de tamaño (desde los 2 a los 5 mm o más) a partir de las 12 o 24 horas de la primera aplicación de FSH.

De manera general, sin tomar en cuenta los tamaños, ambos grupos raciales presentaron una dinámica folicular basada en la atresia folicular inicial con la aplicación del dispositivo de progesterona, seguido de un crecimiento marcado con la aplicación en dosis decrecientes de FSH exógena, de la misma manera ambos grupos

raciales mostraron síntomas de celo en el día 13 del tratamiento, sin embargo, este acontecimiento fue más marcado y duradero en la raza Katahdin.

### **3.2.3. Comparación de variables entre las razas Criolla y Katahdin**

Se compararon estadísticamente variables como tamaño folicular, niveles de estrógenos y células superficiales entre ovejas de las razas Criolla y Katahdin sometidas a un tratamiento de ovulación múltiple.

Para el tamaño folicular se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre ambas razas, las ovejas de la raza Katahdin presentaron folículos de mayor tamaño luego de la aplicación del tratamiento de ovulación múltiple, de igual manera el número de folículos para las ovejas de esta raza fue mayor. **Rebolledo et al. (2017)** señalan al factor genético como un indicador importante en la variabilidad ovulatoria, de manera general las razas prolíficas, tienen una mejor respuesta cuando se les aplica tratamientos superovulatorios. La raza Katahdin según **Sánchez (2012)**, es una raza con niveles altos de fertilidad, prolificidad, con una habilidad materna destacada, y precoz, las ovejas a los 6 meses de edad son ya capaces de aparearse, presentan porcentajes de partos de una sola cría de un 45%, también se registran partos múltiples, con 45.2% para partos dos crías y 12.5 % para partos de tres crías. Por otro lado **Cajilema (2017)** menciona que las ovejas de raza Criolla de Ecuador, son animales dóciles, activos, que se adaptan fácilmente a un entorno, con una gran habilidad materna y prolíficas.

Como podemos darnos cuenta en ambos grupos raciales se ha determinado a la prolificidad como una característica racial propia, sin embargo, **Monteros (2009)** menciona que a pesar de que la raza Criolla ecuatoriana se considere una raza prolífica, generalmente, los partos se limitan a una cría por preñez. Esto se puede considerar como un factor en la superioridad que mostró la raza Katahdin en cuanto al crecimiento folicular mostrado en el experimento.

Para las otras dos variables, niveles de estrógenos y porcentaje de células superficiales el estudio estadístico determinó que no existe una diferencia significativa estadísticamente hablando, sin embargo, el promedio de los niveles de estrógenos es superior en el caso de la raza Katahdin (145.82 pg/mL), en comparación al promedio de la raza Criolla (119.44 pg/mL). Es necesario tomar en cuenta las complicaciones que se dieron al realizar los exámenes de laboratorio debido a la emergencia sanitaria.

A pesar de no haber diferencias estadísticamente significativas en los niveles de estrógenos entre ambas razas, estos niveles fueron notoriamente elevados para cada uno de los animales sometidos al tratamiento de ovulación múltiple. En la oveja, el desarrollo de los folículos antrales ováricos se produce en un patrón ondulado. De uno a tres folículos emergen o crecen más a partir de un conjunto de folículos pequeños (de 1 a 3 mm de diámetro) que alcanzan los 5 mm de diámetro antes de la regresión (onda anovulatoria) u ovulación (onda ovulatoria). El intervalo medio entre ondas es de 3 a 5 días, con tres o cuatro ondas foliculares en el intervalo Inter ovulatorio de las ovejas cíclicas. El desarrollo de cada onda folicular se asocia con un aumento transitorio de las concentraciones séricas de hormona estimulante del folículo (FSH), que dura de 3 a 4 días, y el pico de FSH real se produce dentro de las 24 h de la aparición de la onda. Las concentraciones séricas de estradiol también aumentan al mismo tiempo que el crecimiento del folículo (s) en cada onda, con un pico en las concentraciones séricas de estradiol que ocurren alrededor del final de la fase de crecimiento del folículo más grande de la onda (**Toosi *et al.* 2010**). El estro se identifica por un incremento en la concentración periférica de E2 (estrógenos), esto se produce en la etapa final de la fase folicular del ciclo estral, el E2 tiene su acción en los folículos ováricos, beneficia el desarrollo de las células de la granulosa, y también, provoca cambios en el tracto genital que favorecen el transporte espermático, la fecundación y la implantación embrionaria (**Franco y Uribe Velásquez 2012**).

Valores reportados por (**Franco y Uribe Velásquez 2012**) para niveles de estrógenos durante la fase folicular para ovejas cíclicas de manera natural, a partir de un folículo dominante son de hasta 16 pg/mL. Cabe recalcar que por cada oveja aplicada un

tratamiento de superovulación, el número de folículos de gran tamaño al final del tratamiento fue de 7 u 8.

**Ovando et al. (2013)**, mencionan que en la etapa del estro en ovinos, se produce una secreción mucosa que hace que la impregnación celular en la superficie de un portaobjetos se obstaculice, esto puede disminuir la cantidad de células de una muestra que se pretende observar en el microscopio. Mencionado esto, se determinó un porcentaje de células superficiales elevado para todos los animales, el promedio fue de 80.30 y 79.05 % para las razas Criolla y Katahdin respectivamente, las características celulares obtenidas corresponden con lo que afirma **Fernández (2016)** acerca de las células pertenecientes a la fase del estro dentro del ciclo estral, menciona la presencia de agrupaciones de células queratinizadas cuyo citoplasma se caracteriza por presentar márgenes con ángulos bien observables y romos, y un núcleo con tamaño reducido. Los valores obtenidos de este tipo de células concuerda con lo descrito por **Root (2012)** en cuanto a porcentajes de células superficiales características de la etapa del estro.

#### **3.2.4. Correlación entre variables estudiadas**

Las variables seleccionadas para realizar el estudio de correlación son el tamaño folicular y células superficiales, estas fueron analizadas con los niveles de estrógenos.

El valor de correlación fue de 0.353 para el tamaño folicular, según **Rowntree (2017)**, este valor corresponde a una correlación positiva pero de nivel bajo. Esto no coincide con lo mencionado por **Tirado (2018)**, indica que, los niveles de estradiol sanguíneo son producidos por el folículo dominante en el ciclo estral y la cantidad de estradiol aumenta a medida que se acerca el día de la ovulación. En el presente estudio se registraron niveles bastante altos de estrógenos tomados el día en que se dio la monta de los animales, que sería el día de la ovulación, sin embargo, el estudio estadístico de correlación indica que la relación entre los niveles de estrógenos y el tamaño folicular

es escasa. Desde un punto de vista fisiológico, el resultado obtenido en el estudio no coincide con lo mencionado anteriormente, sin embargo, existe una explicación estadística para esta variable. **Morales (2011)** menciona que, al realizar estudios de correlación, no se puede interpretar como una relación de causa y efecto, y más cuando el número de muestras es bajo, en este caso el número de muestras fue 8, también menciona que cuando en un estudio de correlación, unos pocos sujetos presentan valores demasiado elevados en comparación a la media en 1 o en las 2 variables, la información sobre el grado de relación se puede desvirtuar. El promedio de los valores de niveles de estrógenos fue de 132.63 pg/mL, sin embargo, una oveja arrojó un resultado de 207.4 pg/mL, y esta coincide con el grupo de animales en los que existió problemas para realización de los exámenes de laboratorio por la emergencia sanitaria.

La correlación entre el porcentaje de células superficiales y los niveles de estrógenos fue positiva y de nivel alto con un valor de 0.778. **Ovando et al. (2013)** mencionan que en ovejas se observa una mayor cantidad de células superficiales durante la etapa del estro. **Buchanan et al. (1998)** citado por **Ovando et al. (2013)** indica que este fenómeno de celularidad se da por la acción que ejerce el estradiol sobre el epitelio vaginal, provocando una cornificación, estratificación y proliferación epitelial. Esto coincide con lo registrado en la investigación, además estas pruebas fueron realizadas el día en que se presentó el celo y se dio la monta de los animales, que sería la etapa del estro dentro del protocolo de ovulación múltiple.

### **3.3. Verificación de hipótesis**

Después del análisis realizado en la dinámica folicular bajo protocolos de superovulación en ovejas Katahdin y Criolla de Ecuador, se determinó una diferencia significativa en el crecimiento folicular, siendo superior en la raza Katahdin, confirmando la hipótesis ( $H_1$ ) que la cinética folicular bajo protocolos de superovulación difiere entre las razas Katahdin y Criolla.

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1.CONCLUSIONES

- La cinética folicular bajo la influencia de un protocolo de ovulación múltiple, fue similar en cuanto al comportamiento dinámico de crecimiento y regresión folicular para ambas razas, esta dinámica se caracterizó por la presencia dos ondas de crecimiento, en las que se produce un recambio folicular o generación de una nueva onda, el folículo o folículos presentes en el ovario antes de iniciar el tratamiento, así como su tamaño, influyen en el resultado final del tratamiento superovulatorio, estos folículos sufren un proceso de atresia inducido por el dispositivo de progesterona, después de extraerlo, se genera una nueva onda de crecimiento folicular que se ve potenciada por la aplicación de FSH exógena, durante esta última fase de crecimiento, los folículos alcanzan el tamaño apropiado para que se produzca la ovulación. En cuanto al tamaño folicular, fue significativamente diferente entre las dos razas, todos los animales de la raza Katahdin respondieron mejor al tratamiento de superovulación al registrar folículos preovulatorios de mayor tamaño en comparación a todos los animales de la raza Criolla, de la misma manera el número de folículos totales fue mayor para la raza Katahdin, además, el celo fue más manifiesto y duradero para los animales de esta raza.
- El protocolo utilizado durante la aplicación del programa de superovulación permitió por un lado la atresia folicular, determinada por la acción del dispositivo de progesterona, este actuó de manera similar a un cuerpo lúteo endógeno que es el encargado de secretar progesterona de manera natural, y, por otro lado, la utilización de hormonas gonadotrópicas exógenas, específicamente FSH, permitió el crecimiento potenciado de varios folículos en ambos ovarios de un solo animal.

- La cinética folicular se analizó con el registro diario de ecografías ováricas mediante el método transrectal, esto se hizo con la ayuda de un ecógrafo con una sonda lineal de 7.5 MHz adaptada para que se mantenga fija y poder manipularla desde el exterior, los folículos presentes en el ovario fueron medidos todos los días durante el tratamiento hasta el último día de monta de los animales.
- El análisis de costos determinó los recursos necesarios para la aplicación de un programa de ovulación múltiple para transferencia de embriones en ovejas de raza Katahdin y Criolla de Ecuador, obteniendo un porcentaje de ganancia neta de 18.57 % por cada hembra superovulada. Sin embargo; se debe tomar en cuenta que el objetivo final de un programa MOET, es la obtención de embriones viables, que puedan continuar la gestación en hembras receptoras. Por esta razón, este análisis se debe estructurar de manera complementaria con el análisis de costos del procedimiento de obtención y transferencia de embriones viables de cada oveja superovulada.

#### **4.2. RECOMENDACIONES**

- Realizar un estudio complementario que evalúe la calidad, cantidad y viabilidad de los embriones obtenidos en esta investigación, logrando así, información más ampliada a cerca de la eficacia de la utilización de estas razas ovinas en programas de ovulación múltiple y transferencia de embriones.
- Debido a la docilidad y habilidad materna de la raza Criolla, se recomienda utilizar animales de esta raza como receptoras en programas de ovulación múltiple y transferencia de embriones, con esto, se conserva la genética local y al mismo tiempo se obtienen crías de mayor valor genético para un sistema de producción.

## C. MATERIALES DE REFERENCIA

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amiridis, GS; Cseh, S. 2012. Assisted reproductive technologies in the reproductive management of small ruminants (en línea). *Animal Reproduction Science* 130(3-4):152-161. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.009>.
- Bari, F; Khalid, M; Haresign, W; Merrell, B; Murray, A; Richards, RIW. 1999. An evaluation of the success of MOET in two breeds of hill sheep maintained under normal systems of hill flock management. *Animal Science* 69(2):367-376. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1357729800050931>.
- Buchanan, DL; Kurita, T; Taylor, JA; Lubahn, DB; Cunha, GR; Cooke, PS. 1998. Role of stromal and epithelial estrogen receptors in vaginal epithelial proliferation, stratification, and cornification. *Endocrinology* 139(10):4345-4352. DOI: <https://doi.org/10.1210/endo.139.10.6241>.
- Burns, DS; Jimenez-krassel, F; Ireland, JLH; Knight, PG; Ireland, JJ. 2005. Numbers of Antral Follicles During Follicular Waves in Cattle : Evidence for High Variation Among Animals , Very High Repeatability in Individuals , and an Inverse Association with Serum Follicle-Stimulating Hormone Concentrations 1. 62(March):54-62. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.036277>.
- Cajilema, D. 2017. Evaluación de la condición corporal y el rendimiento a la canal de los ovinos faenados en el camal municipal de la ciudad de Riobamba. s.l., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 101 p.
- Donald C. Plumb. 2006. *Plumb manual de farmacología veterinaria*. 5 ed. Inter-Médica (ed.). Buenos Aires, s.e. 870 p.
- Fernández, C. 2016. Casos clínicos de citología en el perro y el gato (en línea). *SERVET* (ed.). Madrid, s.e. 208 p. Disponible en <https://www.portalveterinaria.com/animales-de-compania/articulos/26562/citologia-del-aparato-reproductor-de-la-hembra.html>.
- Franco, J; Uribe Velásquez, LF. 2012. *Hormonas Reproductivas De Importancia Veterinaria En Hembras Domésticas Rumiantes*. 11(1):41-56.
- Galarraga, B; Cueto, M; Gibbons, AE; Pereyra-Bonnet, F; Catalano, R; Gonzalez-Bulnes, A.

2014. Repeatability of superovulatory response to successive FSH treatments in Merino sheep (en línea). *Small Ruminant Research* 120(1):84-89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.04.002>.
- González, J. Santiago, R.M. García, M.J. Cocero, AL. 2002. Patrones y mecanismos de control del desarrollo folicular durante la administración de protocolos superovulatorios en pequeños rumiantes (Revisión) (en línea). ... *Y Sanidad Animales* 17:38-48. Disponible en <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=287784>.
- González, A; Baird, DT; Campbell, BK; Cocero, MJ; García-García, RM; Inskoop, EK; López-Sebastián, A; McNeilly, AS; Santiago-Moreno, J; Souza, CJH; Veiga-López, A. 2004. Multiple factors affecting the efficiency of multiple ovulation and embryo transfer in sheep and goats. *Reproduction, Fertility and Development* 16(4):421-435. DOI: <https://doi.org/10.1071/RD04033>.
- Google. 2020. Google Maps (en línea, sitio web). Disponible en <https://www.google.com/maps/place/1°25'58.7%22S+78°36'41.0%22W/@-1.4314438,-78.6142428,784m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x0:0x0!8m2!3d-1.4329722!4d-78.6113889>.
- Granleese, T; Clark, SA; Science, R. 2013. Benefits of MOET and JIVET in Optimised Sheep Breeding Programs. *Proc. Assoc. Advmt. Anim. Breed. Genet* 20:94-97.
- Herrera-Camacho, J; Aké-López, JR; Ku-Vera, JC; Williams, GL; Quintal-Franco, JA. 2008. Respuesta ovulatoria, estado de desarrollo y calidad de embriones de ovejas Pelibuey superovuladas suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados. *Tecnica Pecuaria en Mexico* 46(2):107-117.
- Lozano, JM; Lonergan, P; Boland, MP; O'Callaghan, D. 2003. Influence of nutrition on the effectiveness of superovulation programmes in ewes: Effect on oocyte quality and post-fertilization development. *Reproduction* 125(4):543-553. DOI: <https://doi.org/10.1530/rep.0.1250543>.
- Maciel, GS; Rodriguez, MGK; Da Silva, PDA; Nociti, RP; Uscategui, RAR; Santos, VJC; Feliciano, MAR; Vicente, WRR; Oliveira, MEF. 2017. Ovarian Superstimulation Treatment for Multiple Ovulation and Embryo Transfer Programs in Sheep. *Investigação* 16(8):30-36. DOI: <https://doi.org/10.26843/investigacao.v16i8.1888>.

- Mallma; Percy. 2019. Colorantes Diff-Quik y Eosina-Nigrosina en la evaluación morfológica de espermatozoides antes y después de la criopreservación del semen del toro Holstein. s.l., s.e. .
- Martínez, R; Mejía, O; Quintero, L; Reyna, L. 2017. Evaluación de un protocolo de superovulación para transferencia de embriones en ovejas Criollas de la Montaña de Guerrero. 7(3):30-36.
- Mejía Villanueva Octavio. 2018. Transferencia de embriones en ovejas y cabras. s.l., s.e. p. 24.
- Meraï, A; Dattena, M; Casu, S; Rekik, M; Lassoued, N. 2017. High-milking sheep have a lower ovulation rate and tend to yield fewer embryos in response to superovulation and intrauterine artificial insemination. *Reproduction in Domestic Animals* 52(5):814-818. DOI: <https://doi.org/10.1111/rda.12983>.
- Ministerio del Trabajo Ecuador. 2020. Sueldos, salarios mínimos sectoriales y tarifas para el sector privado por ramas de actividad, que abarcan las diferentes comisiones sectoriales (en línea). s.l., s.e. p. 249. Disponible en [https://www.tfc.com.ec/uploads/noticia/adjunto/641/SUELDOS\\_\\_SALARIOS\\_MÍNIMOS\\_SECTORIALES\\_Y\\_TARIFAS\\_PARA\\_EL\\_SECTOR\\_PRIVADO.pdf](https://www.tfc.com.ec/uploads/noticia/adjunto/641/SUELDOS__SALARIOS_MÍNIMOS_SECTORIALES_Y_TARIFAS_PARA_EL_SECTOR_PRIVADO.pdf).
- Mocha, G. 2020. Ubicación del Cantón Mocha (en línea, sitio web). Disponible en [http://www.municipiomocha.gob.ec/gadmocha/index.php?option=com\\_content&view=article&id=16&Itemid=126](http://www.municipiomocha.gob.ec/gadmocha/index.php?option=com_content&view=article&id=16&Itemid=126).
- Monteros, J. 2009. Optimización de una granja ovina para la producción de carne (en línea). s.l., Escuela Politécnica Nacional. 146 p. Disponible en <http://bibdigital.epn.edu.ec>.
- Morales, P. 2011. El coeficiente de correlación. Zaragoza, UNIZAR, vol.26. p. 2-8 DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)82472-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)82472-3).
- Moyano, JC; López, JC; Marini, PR; Fischman, ML. 2017. Crecimiento Pre-Destete del Ovino F1 Blackbelly x Pelibuey en Condiciones de Pastoreo Libre en la Amazonía Ecuatoriana. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 28(4):1078. DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13929>.
- Navarrete, LF; Cruz, AA; González, EI; Piña, RE; Sangines, JR; Toledo, V; Ramón, JP. 2008.

Efecto de la aplicación de la hormona de crecimiento recombinante (rbST) sobre la respuesta superovulatoria y la viabilidad embrionaria en ovejas de pelo. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia* 18(2):175-179.

Ovando, C. ; Neftali, T. ; Florez, A;; Aguirre, F. 2013. Citología y análisis morfométrico de las células del epitelio vaginal durante el ciclo estral en ovejas de pelo (*Ovis aries*). *International Journal of Morphology* 31(3):888-893. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-95022013000300017>.

Peter, AT; Levine, H; Drost, M; Bergfelt, DR. 2009. Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle. *Theriogenology* 71(9):1343-1357. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.12.026>.

Rangel, K; Hernández, J. 2018. *Fisiología Reproducción de los animales domesticos*. 1ra ed. UNAM (ed.). México, UNAM. 540 p.

Rebolledo, ÁD; Manzanero, GV; Romero, AA; Franco, JQ; Rodriguez, JB; Lorca, JR; Ugalde, JR. 2017. Follicular population at the onset of a superovulatory treatment and ovarian response in hair ewes. *Romanian Biotechnological Letters* 22(2):12427-12431.

Regueiro, M; Pérez Clariget, R; Ganzábal, A; Aba, M; Forsberg, M. 1999. Effect of medroxyprogesterone acetate and eCG treatment on the reproductive performance of dairy goats. *Small Ruminant Research* 33(3):223-230. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(99\)00024-3](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(99)00024-3).

Root, M. 2012. *Reproducción clínica de caninos y felinos*. 2 ed. Buenos Aires, Intermédica. 228 p.

Rowntree, D. 2017. *Introducción a la estadística: un enfoque no matemático*. (en línea). Pereira, UTP. p. 2. Disponible en <http://academia.utp.edu.co/seminario-investigacion-II/files/2017/03/06a.AnálisisDeCorrelaciones.pdf>.

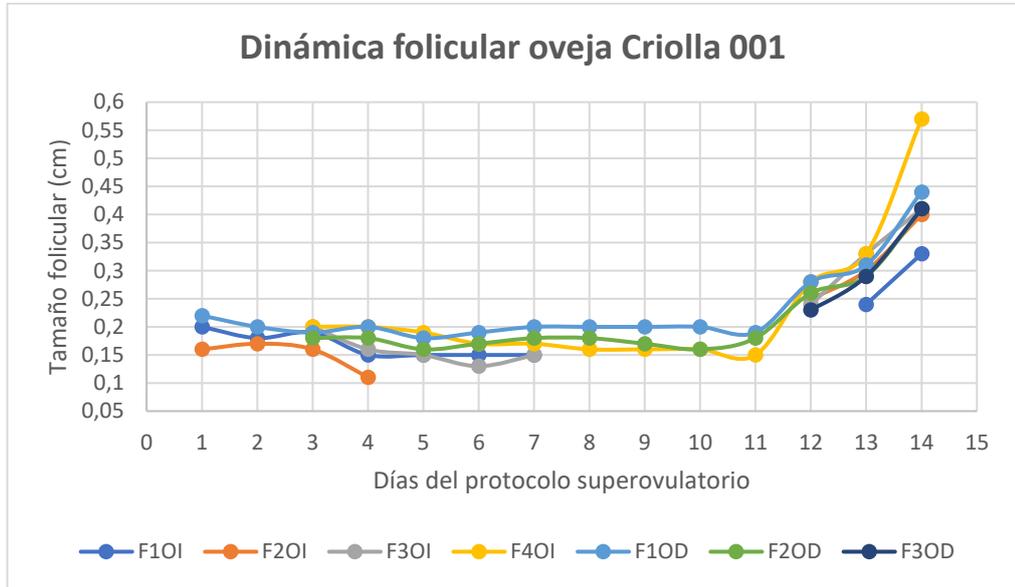
Rubianes, E; Ibarra, D; Ungerfeld, R; Carbajal, B; de Castro, T. 1995. Superovulatory response in anestrous ewes is affected by the presence of a large follicle. *Theriogenology* 43(2):465-472. DOI: [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)00039-](https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)00039-)

W.

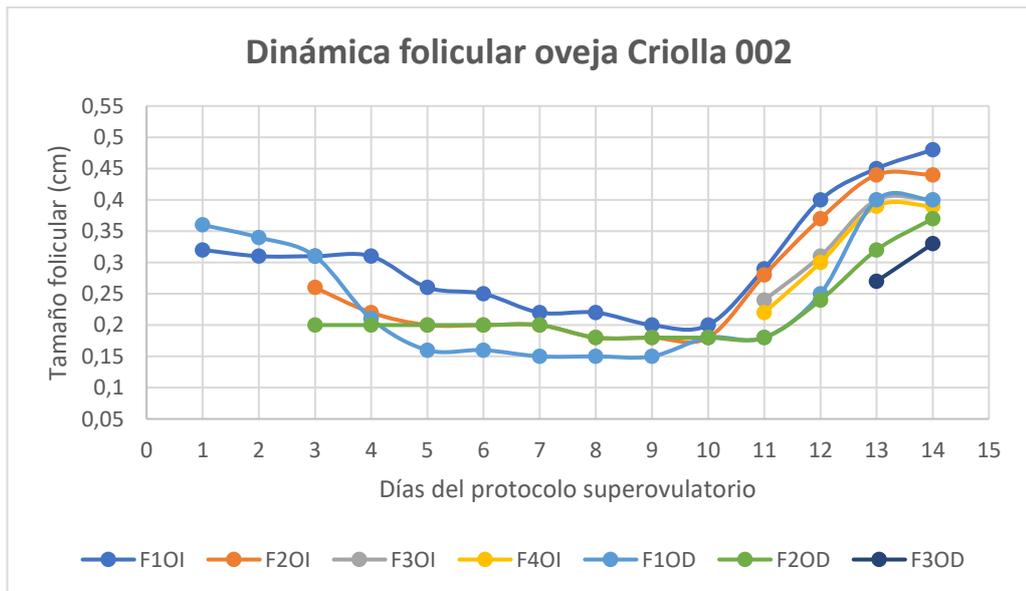
- Sánchez, S. 2012. Importancia de las razas Katahdin y Dorper en la ganadería ovina de pelo en México (en línea). s.l., Universidad Autónoma San Luis Potosí. 56 p. Disponible en <https://www.boe.es/buscar/pdf/2003/BOE-A-2003-20838-consolidado.pdf>.
- Santiago Moreno, J; Acosta Rodríguez, M; González de Bulnes, A; Castrillo Zubiria, I; Pérez Marín, C; López Sebastián, A. 1999. Evaluación ecográfica de la enfermedad quística ovárica en pequeños rumiantes. *Archivos de Zootecnia* 48(182):157-165.
- Simonetti, L; Forcada, F. 2008. Simplificación de los métodos de superovulación en ovejas de la raza Corriedale (en línea). *Riunet* :1-230. DOI: <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/3784>.
- Tirado, M. 2018. Efecto del acetato de medroxiprogesterona y benzoato de estradiol, sobre la emergencia folicular en cabras con baja condición corporal. s.l., s.e. 56 p.
- Toosi, BM; Seekallu, S V.; Barrett, DMW; Davies, KL; Duggavathi, R; Bagu, ET; Rawlings, NC. 2010. Characteristics of peaks in serum concentrations of follicle-stimulating hormone and estradiol, and follicular wave dynamics during the interovulatory interval in cyclic ewes (en línea). *Theriogenology* 73(9):1192-1201. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.11.005>.
- Torres-Zapata, S; Luna-Palomera, C; Aguilar-Cabrales, JA; Peralta-Torres, JA; Aké-López, JR; Sánchez-Dávila, F; Abad-Zavaleta, J. 2016. Ovulatory response and embryo quality in Katahdin ewes supplemented with palm oil. *South African Journal of Animal Sciences* 46(3):261-268. DOI: <https://doi.org/10.4314/sajas.v46i3.5>.
- Veiga, A; Gonzalez, A; Garcia, RM; Dominguez, V; Cocero, MJ. 2005. The effects of previous ovarian status on ovulation rate and early embryo development in response to superovulatory FSH treatments in sheep. *Theriogenology* 63(7):1973-1983. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.09.055>.
- Zoetis. 2019. CIDR Progesterona en dispositivo intravaginal (en línea, sitio web). Disponible en <https://ar.zoetis.com/products/bovinos/cidr.aspx>.

## ANEXOS

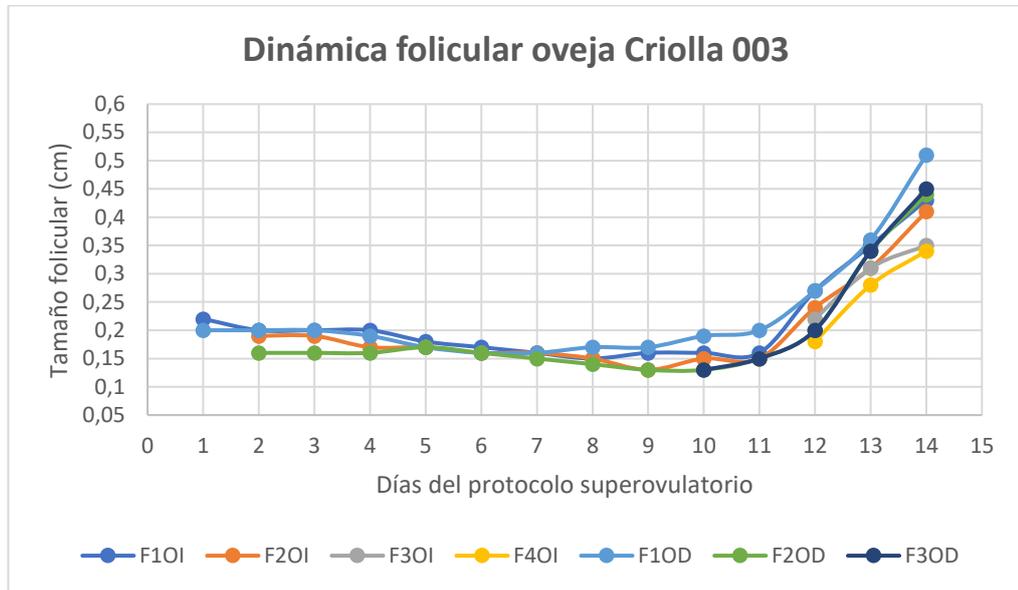
**Gráfico 4.** Dinámica folicular de la oveja Criolla 001.



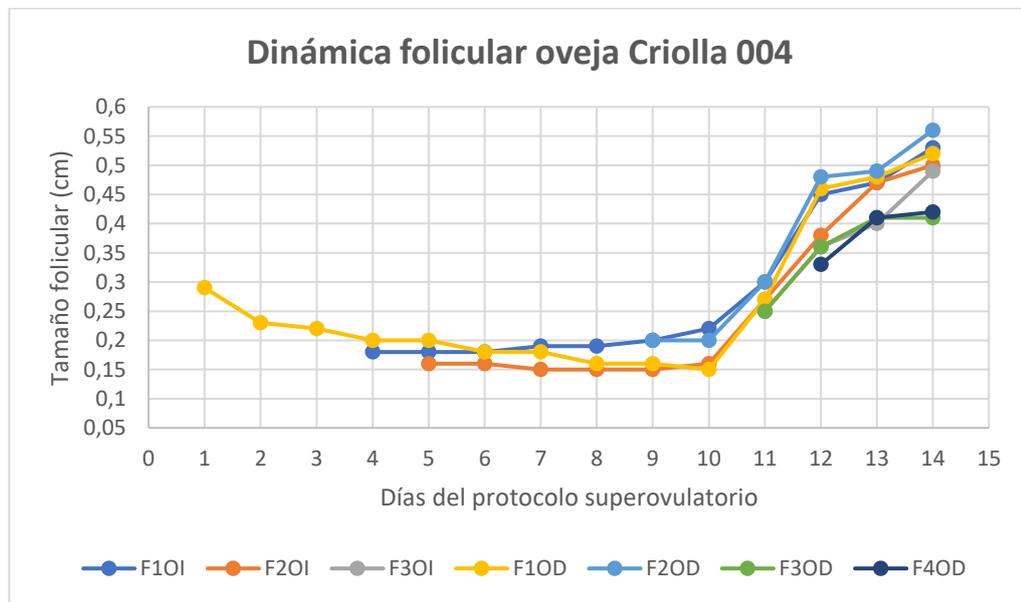
**Gráfico 5.** Dinámica folicular de la oveja Criolla 002.



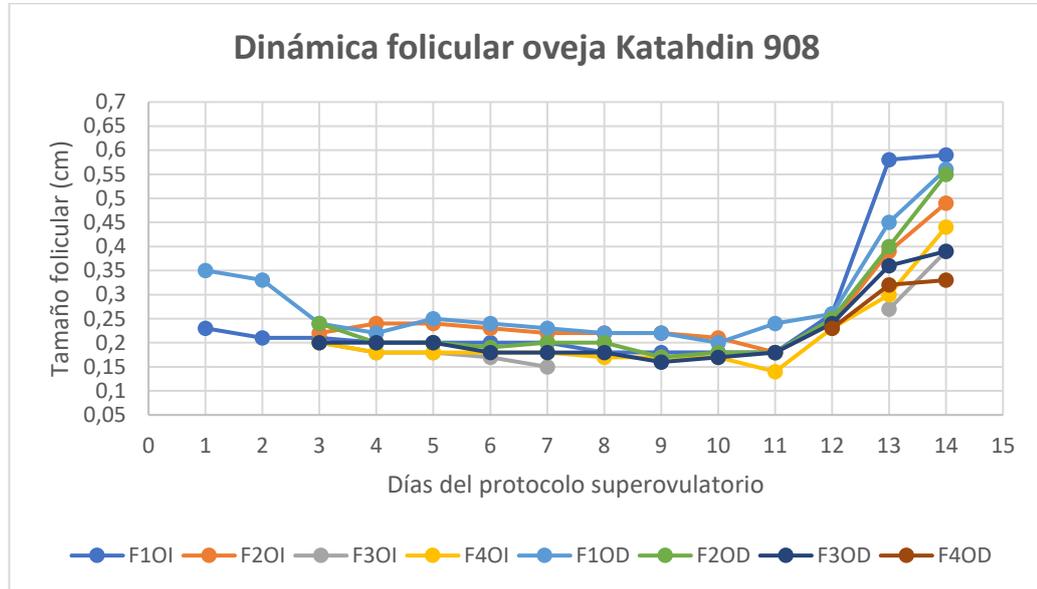
**Gráfico 6.** Dinámica folicular de la oveja Criolla 003.



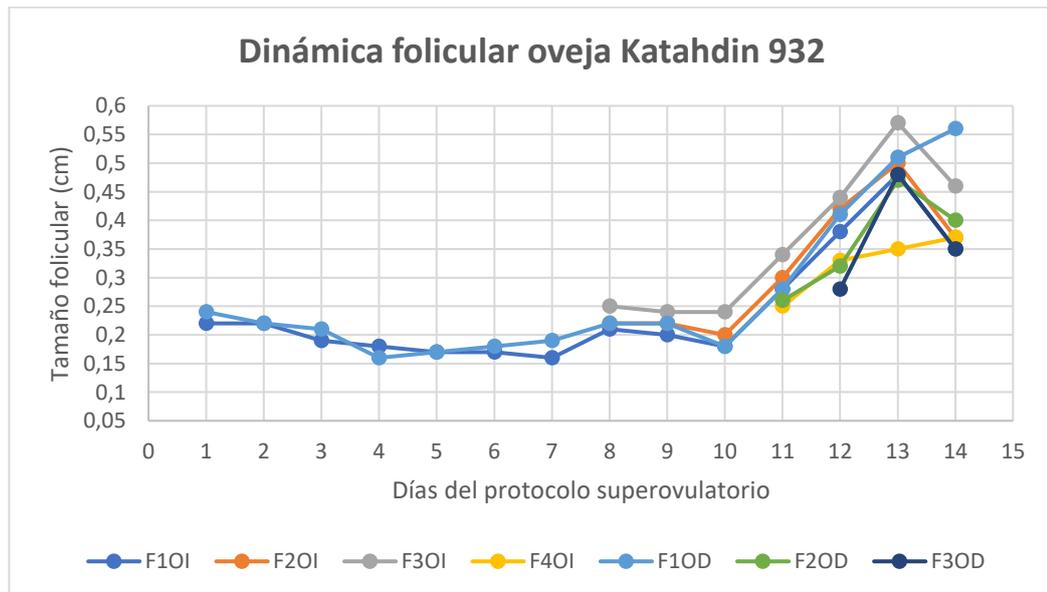
**Gráfico 7.** Dinámica folicular de la oveja Criolla 004



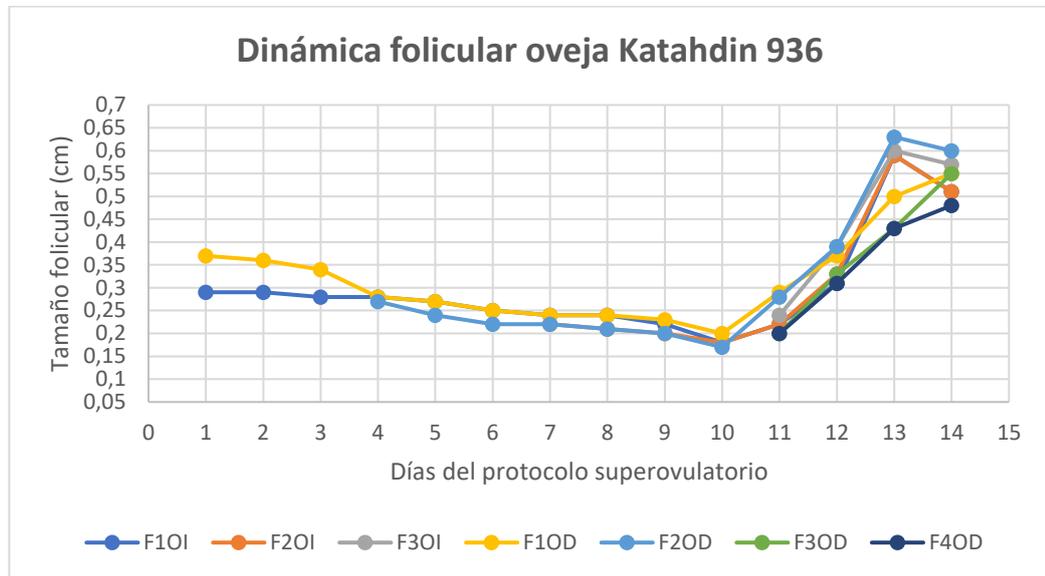
**Gráfico 8.** Dinámica folicular de la oveja Katahdin 908.



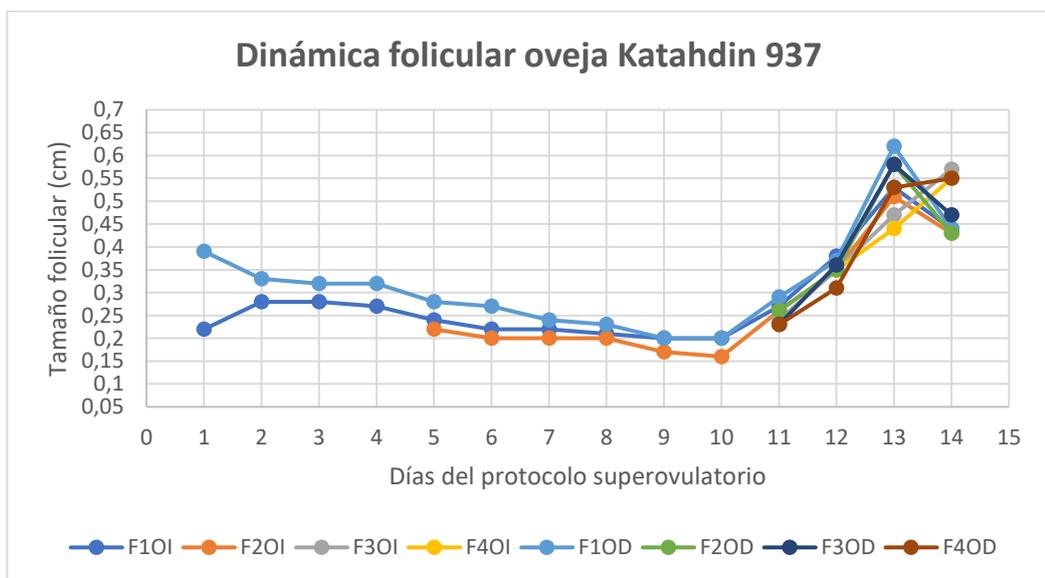
**Gráfico 9.** Dinámica folicular de la oveja Katahdin 932.



**Gráfico 10.** Dinámica folicular de la oveja Katahdin 936.

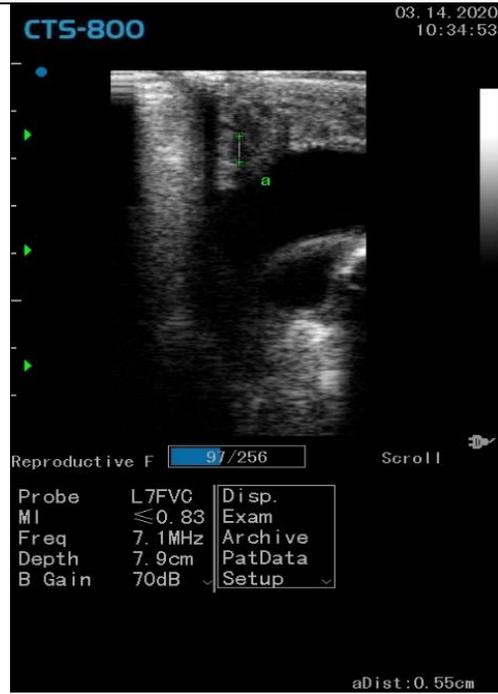


**Gráfico 11.** Dinámica folicular de la oveja Katahdin 937.



Descripción	Fotografía
<p>Chequeo ginecológico a la llegada de los animales, se observa la adaptación del transductor para manipularlos desde el exterior</p>	
<p>Animales en pastoreo</p>	
<p>Aplicación del dispositivo de progesterona</p>	

Ecografía ovárica para determinar el tamaño folicular



Signos de celo en los animales



Monta natural al primer día de la presencia de celo





Práctica de la técnica  
quirúrgica para el lavado y  
recuperación de embriones



Técnica quirúrgica para el  
lavado y recuperación de  
embriones



Observación de embriones  
en el estereoscopio

