UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente

Carrera de Medicina Veterinaria

TEMA:

EVALUACIÓN DE DOS TÉCNICAS IN VIVO E IN VITRO DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES DE RAZA CHAROLAIS EN LA PROVINCIA MORONA SANTIAGO.

Proyecto de Investigación previo a la obtención del Título de Médico Veterinario otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Medicina Veterinaria.

Autores:

Jheremy Alexander Buestán Hervas

Tutor:

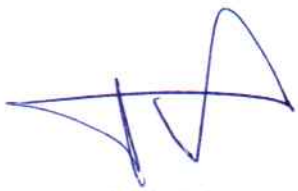
Dr. Franco Bolívar Cordero Salazar. MSc.

GUARANDA – ECUADOR

2025

EVALUACIÒN DE DOS TÈCNICAS IN VIVO E IN VITRO DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES DE RAZA CHAROLAIS EN LA PROVINCIA MORONA SANTIAGO.

REVISADO Y APROBADO POR:



.....

Dr. Franco Bolívar Cordero Salazar. MSc.

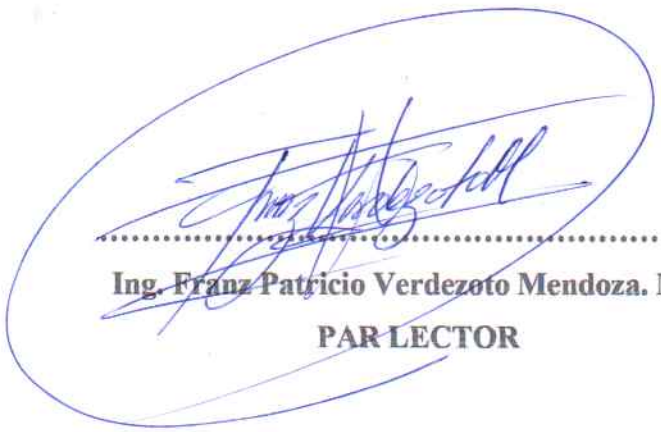
TUTOR



.....

Dr. Jhonatan Adrián Monteros Pazmiño. MSc.

PAR LECTOR



.....

Ing. Franz Patricio Verdezoto Mendoza. MSc.

PAR LECTOR

CERTIFICACIÓN DE AUTORIA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Yo, Jheremy Alexander Buestán Hervas, con CI: 1600495905, declaró que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor (es).

La Universidad Estatal de Bolívar, puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.

.....

Jheremy Alexander Buestán Hervas

AUTOR

CI: 1600495905

NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA

.....

Dr. Franco Bolívar Cordero Salazar. MSc.

TUTOR

CI: 1102759329

ESCRITURA Nº 20240201004P00304

DECLARACIÓN JURAMENTADA
OTORGAN:
JHEREMY ALEXANDER BUESTAN HERVAS
CUANTÍA: INDETERMINADA
Di 2 COPIAS

En el Cantón Guaranda, Provincia Bolivar, República del Ecuador, hoy viernes a los quince dias del mes de noviembre del año dos mil veinticuatro, ante mí **DOCTORA MSc. GINA LUCIA CLAVIJO CARRIÓN, NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA,** comparece con plena capacidad, libertad y conocimiento, el señor **JHEREMY ALEXANDER BUESTAN HERVAS,** de estado civil soltero, por sus propios y personales derechos en calidad de OTORGANTE. El compareciente declara ser de nacionalidad ecuatoriano, mayor de edad, de estado civil como se deja expresado, de ocupación estudiante, domiciliado en la parroquia Pablo Sexto, Cantón Pablo Sexto, Provincia Morona Santiago y de paso por este Canton Guaranda, provincia Bolivar, con teléfono celular número cero nueve nueve seis cuatro nueve siete cero nueve dos; y, con correo electrónico **alexbhrc@gmail.com,** hábil en derecho para contratar y contraer obligaciones, a quien de conocerle doy fe, en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación cuyas copias fotostáticas debidamente certificadas por mí, agrego a esta escritura como documentos habilitantes. Advertido el compareciente por mí la Notaria de los efectos y resultados de esta escritura, así como examinado que fue en forma aislada y separada de que comparece al otorgamiento de esta escritura sin coacción, amenazas, temor reverencial, ni promesa o seducción instruido por mí de la obligación que tiene de decir la verdad con claridad y exactitud; y, advertido sobre la gravedad del juramento y de las penas de perjurio, me solicita que recepte su declaración juramentada: Yo, **JHEREMY ALEXANDER BUESTAN HERVAS,** de estado civil soltero, declaro que los criterios e ideas emitidos en el presente Proyecto de investigación de titulación es de mi absoluta autoria, titulado **EVALUACION DE DOS TECNICA IN VIVO E IN VITRO DE TRASNFERENCIA DE EMBRIONES DE RAZA CHAROLAIS EN LA PROVINCIA MORONA SANTIAGO**, previo a la obtención del título de Médico Veterinario, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, carrera de Medicina Veterinaria.- Es todo cuanto puedo declarar en honor a la verdad.- Para su otorgamiento se observaron los preceptos de ley y leída que le fue al compareciente íntegramente por mí la Notaria, aquel se ratifica en todas sus partes y firma junto conmigo en unidad de acto, incorporando al protocolo de esta Notaria la presente escritura de Declaración Juramentada, de todo cuanto doy Fe.----------

SR. JHEREMY ALEXANDER BUESTAN HERVAS.
C.C. 1600495905

NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA

DOCTORA MSc. GINA LUCIA CLAVIJO CARRIÓN
NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA

Tesis Jheremy Alexander Buestán Hervas

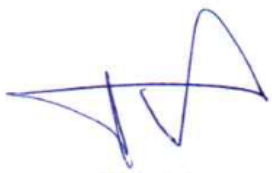
INFORME DE ORIGINALIDAD

6%	2%	0%	4%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	dspace.ueb.edu.ec Fuente de Internet	2%
2	ri.uaemex.mx Fuente de Internet	2%
3	dspace.ucuenca.edu.ec Fuente de Internet	1%
4	1library.co Fuente de Internet	1%

Excluir citas	Activo	Excluir coincidencias	< 3%
Excluir bibliografía	Activo		



.....

Dr. Franco Bolívar Cordero Salazar. MSc.

TUTOR

Recibo digital

Este recibo confirma quesu trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega:	VÍCTOR ALEJANDRO BÓSQUEZ BARCENES
Título del ejercicio:	35
Título de la entrega:	Tesis Jheremy Alexander Buestán Hervas
Nombre del archivo:	33333333333333333.pdf
Tamaño del archivo:	1.47M
Total páginas:	67
Total de palabras:	12,062
Total de caracteres:	61,929
Fecha de entrega:	15-nov.-2024 06:48a. m. (UTC-0600)
Identificador de la entre...	2520464220



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente

Carrera de Medicina Veterinaria

TEMA:

EVALUACIÓN DE DOS TÉCNICAS IN VIVO E IN VITRO DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES DE RAZA CHAROLAIS EN LA PROVINCIA MORONA SANTIAGO

Proyecto de Investigación previo a la obtención del Título de Médico Veterinario otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Medicina Veterinaria.

Autores:

Jheremy Alexander Buestán Hervas

Tutor:

Dr. Franco Bolívar Cordero Salazar. MSc

GUARANDA - ECUADOR

2024

.....

Dr. Franco Bolívar Cordero Salazar. MSc.

TUTOR

Derechos de autor 2024 Turnitin. Todos los derechos reservados.

DEDICATORIA

Este proyecto de investigación primero se lo de dedico a Dios por darme fuerza día a día para seguir luchando por mis sueños.

A mi madre Katherine Hervas que ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores lo cual me ha ayudado a seguir adelante, ella que todos los días se esfuerza para poder brindarnos un futuro mejor, a ella que puso toda su fe en mi para que hoy pueda decirlo lo logramos.

A mi padre Italo Buestan que desde el cielo me ilumina para seguir adelante con mis proyectos, motivándome y alentándome a ser mejor cada día.

A mi segundo padre Marlon Palomeque que desde el momento que llego a mi vida ha venido apoyándome sin condición alguna, quien me ha brindado el cariño y el apoyo voluntario y a puesto toda su fe en mi para cumplir este anhelado sueño.

A mis hermanos Heybraham, Aitana y Eskarleth que por a poyarme a mí a lo mejor no pudieron cumplir alguna fantasía de ellos, sacrificaron tiempo y parte de su niñez para hoy poder cumplir mi sueño.

A mis abuelitos Humberto y Cecilia que nunca falto la llamada y la frase toma mijo para las colitas.
Y demás familia que siempre estuvieron apoyándome moralmente para que no desmaye en el proceso.

Jheremy Alexander Buestán Hervas

AGRADECIMIENTO

Primero debo agradecer a dios por haberte permitido llegar hasta este punto en el cual estoy cumpliendo uno de mis más grandes sueños.

A mi madrecita Dios te pague por todo el esfuerzo y sacrificio que hiciste día tras día sin rechistar, por todo lo que tuviste que afrontar y no rendirte, gracias por tener fe en mí a pesar de mis tropiezos, mil gracias madre mía y este triunfo es para ti.
A mis dos padres que en sus etapas siempre han estado pendiente de mí, no me han abandonado ni me han dejado rendir en todo el proceso, gracias también por esos consejos brindados y por tener fe y voluntad hacia mí.

A mi pareja Karla que todos los días estuvo apoyándome a culminar mi carrera recordándome lo duro y difícil que es y que fue el periodo académico para no rendirme en el último de los procesos.

A toda mi familia en general que siempre estuvo diciéndome que podría logar mis sueños.

Ahora puedo decir lo logramos familia (Buestan Hervas, Palomeque, Reyes) este trabajo y este título universitario no se hubiese logrado sin su apoya mil gracias a todos por apoyarme incondicionalmente

A mis mentores Dr. Cid y Dr. Iván amigos y colegas que me han apoyado a perfeccionar mis conocimientos en el área de trabajo.

Agradezco a mi tribunal de trabajo para la elaboración de este proyecto quienes supieron apoyarme y guiarme en el proceso.

Jheremy Alexander Buestán Hervas

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO	PAG.
CAPÍTULO I	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. PROBLEMA	3
1.3. OBJETIVOS	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivos específicos	4
1.4. HIPÓTESIS	5
CAPÍTULO II	6
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. Transferencia de embriones	6
2.2. Selección de receptoras	7
2.2.1. Protocolo de preparación de receptoras	8
2.2.2. Hormonas para sincronización de receptoras	8
2.3. Técnicas de producción de embriones	10
2.3.1. Aspiración folicular y fertilización in vitro	10
2.3.2. Procedimiento para aspiración folicular y fertilización in vitro	11
2.3.3. Producción de embriones in vivo	12
2.4. Técnicas de criopreservación de embriones	14
2.4.1. Congelación convencional	14
2.4.2. Vitrificación	16
2.5. Evaluación de embriones	17
2.6. Diagnóstico de gestación por ultrasonido	18
CAPÍTULO III	20
3. MARCO METODOLÓGICO	20
3.1. Ubicación y características de la investigación	20
3.2. Metodología	20
3.2.1. Material experimental	20
3.2.2. Factores en estudio	21
3.2.3. Tratamientos	21
3.2.4. Tipo de diseño experimental o estadístico	21

3.2.5. Manejo del experimento en campo 21
3.2.6. Métodos de evaluación (variables respuesta) 22
3.2.7. Análisis de datos 24
CAPÍTULO IV 25
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 25
4.1. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS 25
4.1.1. Edad de las hembras bovinas 25
4.1.2. Condición corporal de las hembras bovinas 27
4.1.3. Tamaño del cuerpo lúteo 29
4.1.4. Disposición del cuerpo lúteo 31
4.1.6. Calidad embrionaria 34
4.1.7. Taza de preñez 36
4.2. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS 38
CAPÍTULO V 39
5.1. CONCLUSIONES 39
5.2. RECOMENDACIONES 40
BIBLIOGRAFÍA 41
ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

N°	Detalle	Pag.
1.	Protocolo de preparación de receptoras	8
2.	Tratamientos de la investigación	21
3.	Análisis de varianza	24
4.	Análisis de la varianza de la edad de las hembras bovinas	25
5.	Prueba de Tukey al 5% de la edad de las hembras bovinas	25
6.	Análisis de la varianza de la condición corporal de las hembras bovinas	27
7.	Prueba de Tukey al 5% de la condición corporal de las hembras bovinas	27
8.	Análisis de la varianza del tamaño del cuerpo lúteo	29
9.	Prueba de Tukey al 5% del tamaño del cuerpo lúteo	29
10.	Análisis de la varianza de la disposición del cuerpo lúteo ovario derecho	31
11.	Prueba de Tukey al 5% de la disposición del cuerpo lúteo ovario derecho	31
12.	Análisis de la varianza de la disposición del cuerpo lúteo ovario izquierdo	32
13.	Prueba de Tukey al 5% de la disposición del cuerpo lúteo ovario izquierdo	33
14.	Análisis de la varianza de la calidad embrionaria	34
15.	Prueba de Tukey al 5% de la calidad embrionaria	34
16.	Análisis de la varianza de la taza de preñez	36
17.	Prueba de Tukey al 5% de la taza de preñez	36

ÍNDICE DE FIGURAS

N°	Detalle	Pag.
1.	Edad de las hembras bovinas	26
2.	Condición corporal de las hembras bovinas	28
3.	Tamaño del cuerpo lúteo	30
4.	Disposición del cuerpo lúteo ovario derecho	32
5.	Disposición del cuerpo lúteo ovario izquierdo	33
6.	Calidad embrionaria	35
7.	Taza de preñez	37

ÍNDICE DE ANEXOS

N° **Detalle**

1. Mapa de ubicación de la investigación

2. Base de datos

3. Fotografías

4. Glosario de términos técnicos

RESUMEN

La obtención de animales con alta carga genética en fenotipos y genotipos estandarizados por cada raza para incrementar la producción, ya sea de leche o carne generalmente se hace importando animales de otros países que se conoce que tienen estándares altos en genotipo y fenotipo de cada raza por lo cual los costos llegan a ser muy elevados. En la mayoría de las haciendas a nivel nacional se ha visto la necesidad de obtener animales elites en producción sea de leche o carne para mejorar la calidad de los hatos ganaderos para ello como solución se ha adquirido las nuevas técnicas de reproducción asistida como la transferencia de embriones por circuito cerrado o conocido como lavado de embriones que es una técnica de producción de embriones in vivo, y la técnica de producción de embriones vitrificados mediante la técnica de aspiración folicular , fertilización in vitro y la vitrificación. Uno de los factores que diferencian a los embriones obtenidos por el método de conservación para los embriones producidos in vivo se conservan mediante congelación directa y los producidos in vitro son vitrificados que son dos procesos muy diferentes para la conservación del embrión. Los objetivos planteados fueron: 1) Determinar la técnica con mayor taza de preñez in vivo o in vitro. 2) Evaluar los embriones obtenidos para su implantación. 3) Determinar la mejor condición del cuerpo lúteo para la implantación. La investigación se llevó a cabo en el sector Pablo Sexto en donde se efectuó un muestreo aleatorio de 20 hembras bovinas divididas en 2 grupos para la aplicación de cada una de las técnicas de transferencia de embriones sea in vivo o in vitro en un grupo altamente seleccionado por características como edad, tamaño de cuerpo lúteo, condición corporal. De los resultados obtenidos se puede indicar que las dos técnicas (in vivo e in vitro) obtuvieron el mayor porcentaje (70 y 50%) para un tamaño de cuerpo lúteo de 3 cm, también que en el ovario derecho de la mayoría de las hembras se encontraba el cuerpo lúteo con un porcentaje de 60 y 70%, mientras que la calidad que presentaron todas las hembras corresponde a Grado 1, en relación a la taza de preñez, se demuestra que la técnica in vivo presentó una igual de hembras preñadas y no preñadas manejando una taza del 50% de preñez, mientras que la técnica in vitro obtuvo una menor taza de hembras preñadas con una taza de 30%,

determinando así que esta variable depende del tamaño del cuerpo lúteo y del manejo al momento de realizar la implantación.

Palabras Claves: criopreservación, vitrificación, transferencia de embriones, fertilización in vitro, aspiración folicular, cuerpo lúteo.

SUMMARY

Obtaining animals with a high genetic load in standardized phenotypes and genotypes for each breed to increase production, whether milk or meat, is generally done by importing animals from other countries that are known to have high standards in genotype and phenotype of each breed. which the costs become very high. In most farms nationwide, there has been a need to obtain elite animals for milk or meat production to improve the quality of livestock herds. As a solution, new assisted reproduction techniques have been acquired, such as the transfer of embryos by closed circuit or known as embryo washing which is a technique for producing embryos in vivo, and the technique for producing vitrified embryos using the follicular aspiration technique, in vitro fertilization and vitrification. One of the factors that differentiates the embryos obtained by the conservation method: embryos produced in vivo are preserved by direct freezing and those produced in vitro are vitrified, which are two very different processes for embryo conservation.

The objectives set were: 1) Determine the technique with the highest pregnancy rate in vivo or in vitro. 2) Evaluate the embryos obtained for implantation. 3) Determine the best condition of the corpus luteum for implantation. The research was carried out in the Pablo Sexto sector where a random sampling of 20 bovine females divided into 2 groups was carried out for the application of each of the embryo transfer techniques either in vivo or in vitro in a highly selected group. by characteristics such as age, corpus luteum size, body condition. From the results obtained, it can be indicated that the two techniques (in vivo and in vitro) obtained the highest percentage (70 and 50%) for a corpus luteum size of 3 cm, also that in the right ovary of the majority of the females. The corpus luteum was found with a percentage of 60 and 70%, while the quality presented by all the females corresponds to Grade 1, in relation to the pregnancy rate, it is shown that the in vivo technique presented an equal number of females. pregnant and non-pregnant females managing a rate of 50% pregnancy, while the in vitro technique obtained a lower rate of pregnant females with a rate of 30%, thus determining that this variable depends on the size of the corpus luteum and the management at the time of perform the implementation.

Keywords: cryopreservation, vitrification, embryo transfer, in vitro fertilization, follicular aspiration, corpus luteum.

CAPÍTULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

La obtención de animales de alta calidad genética para incrementar la producción de leche y carne, generalmente se hace importando animales de otros países a costos muy elevados. Una alternativa para generar animales valiosos en el país desde el punto de vista genético, es mediante la utilización de la transferencia de embriones. Por muchos años, el ganado bovino ha sido mejorado genéticamente desde el lado paterno mediante el uso de la Inseminación Artificial (lA). Por el contrario, mediante la técnica de la Transferencia de Embriones (TE) se puede acelerar el mejoramiento del ganado desde el lado materno, disminuyendo el intervalo entre generaciones y acelerando el proceso de selección obteniendo un gran número de progenie de donadoras valiosas que permitirá incrementar la producción animal, mediante el avance de la tecnología se han creado 2 técnicas muy utilizadas para la obtención de embriones técnicas de superovulación (SOV) para producción de embriones in vivo y fertilización in vitro (FIV) para producción de embriones in vitro mediante aspiración folicular (OPU). (Tribulo A. , 2019)

La taza de preñez a nivel mundial ha sido un tema de alta relevancia en los últimos 30 años debido al gran costo que lleva realizar estas técnicas de transferencia de embriones para ello así como existe una taza de preñez adecuada a nivel mundial que consta en una mínima del 25-40 % de taza de preñez este se refiere más a la parte superior a favor del continente americano los cuales llevan una taza de preñez super alta debido a la investigación e iniciación en estos procesos de biotecnología. El continente americano, es el continente con la mayor taza de preñez por transferencia de embriones aportando a la taza mundial con un 38-50 % en la taza de preñez.

De este continente los países con mayor desarrollo en estas técnicas son: Estados Unidos México, Brasil, Argentina, Chile, Colombia y Ecuador. (IETS, 2022)

Actualmente según la IETS en el año 2022. Ecuador está manejando una taza de preñez correspondiente al 32 %, cabe recalcar que los datos tomados por la IETS son únicamente del personal altamente capacitado y certificado para ingresar datos hábiles de cada país, por ellos los datos pueden ser variable con relación a todo el país.

1.2. PROBLEMA

En la mayoría de las haciendas a nivel nacional se ha visto la necesidad de obtener animales elites en producción sea de leche o carne para ello como solución se ha adquirido las nuevas técnicas de reproducción asistida como la transferencia de embriones y la producción de embriones, a pesar de ello existe un, pero entre las técnicas como lo es la taza de preñez. Conocer el porcentaje (%) de vacas preñadas en un hato es muy importante antes de escoger una técnica de reproducción para ello en base a la necesidad del cantón pablo sexto se realizará la presente investigación comparando la taza de preñez mediante transferencia de embriones producidos in vivo e in vitro en vacas de producción lechera las mismas que facilitaran a un buen destete del futuro animalito.

Uno de los factores que diferencian a los embriones obtenidos por las diferentes técnicas es el método de conservación para los embriones producidos in vivo se conservan mediante congelación directa y los producidos in vitro son vitrificados.
El proceso de congelación podría resumirse mencionando que a medida que una solución acuosa se enfría por debajo de 0°C disminuye el movimiento molecular, sobre enfriándose hasta alcanzar una masa crítica de núcleos, momento en el cual se libera el calor latente de cambio de estado. Uno de los efectos de la cristalización de las colusiones acuosas es remover el agua de la solución, ya que los cristales que se forman estos compuestos por agua pura, por lo cual la solución remanente que permaneces sobre enfriada, se concentra. De este modo, esta nueva solución permanece liquida hasta que alcanza, mediante una mayor extracción de calor, el nuevo punto de equilibrio de congelamiento. Este proceso se repite hasta que una determinada temperatura, denominada eutéctica o “punto eutéctico”, la fase líquida remanente y los solutos solidifican (Pedrosa, 2020)

La vitrificación es un proceso físico de solidificación utilizado para conservar órganos, tejidos y embriones. La solución vitrificante (SV) lleva incorporado crio protectores en alta concentración. Al ser enfriada no cristaliza, sino que se torna viscosa y pasa del estado líquido a un estado sólido no estructurado similar al vidrio, tomando de ahí su nombre. (IMF, 2022)

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

- Evaluar dos técnicas de in vivo e in vitro de transferencia de embriones de raza charoláis.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar la técnica con mayor taza de preñez in vivo o in vitro
- Evaluar los embriones obtenidos para su implantación.
- Determinar la mejor condición del cuerpo lúteo para la implantación.

1.4. HIPÓTESIS

H_O: La taza de preñez por transferencia de embriones no depende de la técnica de producción y obtención.

H_1: La taza de preñez por transferencia de embriones si depende de la técnica de producción y obtención.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Transferencia de embriones

La transferencia de embriones ha tomado mucha influencia en la actualidad debida a sus múltiples ventajas que ofrece como: la réplica de genética elite en poco tiempo, incremento de poblaciones genéticamente mejoradas y otras más relacionadas con la biotecnología. La transferencia como tal consiste en seleccionar vacas no genéticamente mejorada, como vientres de alquiler, las cuales serán reconocidas como vacas receptoras en las que se implantara los embriones los mismos que en sus ADN serán genéticamente mejorados, de características seleccionadas e inclusive sexados. En esta técnica no interviene el ADN de la vaca receptora por lo cual el embrión será 100% de genética elite. (Escribano, 2022)

La tasa de preñez según la International Embryo Transferenci (IET) nos dice que va del 20 al 30 % a nivel mundial como promedio normal, este promedio puede ser más alto e inclusive más bajo debido a diversos factores como la selección de receptoras, condición corporal, estado nutricional, raza, edad, estrés, dolor, mala técnica y vacas con problemas reproductivos e inclusive embriones mal calificados. Según la escala mundial de calificación de embriones solo se transfieren embriones en estado de mórulas y blastocisto grado 1 y 2; es decir que en su estructura no tengas más del 25% del macizo celular fuera de su normalidad. (IETS, 2022)

Existen algunas formas de obtención de embriones entre ellos los más utilizados como la producción in vivo e in vitro que inclusive la técnica de obtención de los embriones afecta en la taza de concepción de los embriones ya que los obtenidos en in vitro no tiene zona pelúcida que es una micro membrana que protege el macizo celular de cualquier anormalidad. (IETS, 2022)

2.2. Selección de receptoras

Según Saavedra en el 2021. La selección del grupo de receptoras es muy importante en el momento de planificar y organizar la transferencia de embriones, ya que lo que se busca es obtener más animales elite en un año; aun sabiendo que el promedio mundial de la tasa de preñez por transferencia de embriones es del 30-40% significativamente bajo, para lo cual la selección del grupo de receptoras será crucial y debería basarse en varios factores posteriormente mencionados.

- Condición corporal
- Grupo estrogenicamente activo (presencia de celo)
- Nutrición animal
- Raza
- Edad
- Condiciones medio ambientales

Cada animal será alimentado de la mejor manera para poder obtener mejores resultados evitando el exceso de azúcar antes mencionado e incorporando en la dieta fosforo, selenio e incluso administrándoles inyectablemente estos minerales nos sirven en la producción de ácidos grasos, los mismos que estimulan la producción de hormonas como los estrógenos dando así una mejoría en la eficiencia reproductiva de los animales. (Brito, 2020)

2.2.1. Protocolo de preparación de receptoras

Tabla 1

Protocolo de preparación de receptoras

Dia	Descripción	Observación	Hora
DIA 0	DIB (Dispositivo Intravaginal Bovino)+ 2 MG BE (Benzoato de estradiol)		8:00 a. m.
DIA 8	2 ml prostaglandina + 400 ui ecg (gonadotrofina corionica equina) + retiro de dib		8:00 a. m.
DIA 9	1 mg benzoato de estradiol	Utilizar media dosis	8:00 a. m.
DIA 10	Identificación del celo	Montas y presencia de mucosa vaginal	8:00 a. m.
DIA 17	Ultrasonografía y transferencia de embriones	Aplicar flumixin	8:00 a. m.

Fuente: (IRAC-Córdoba, 2014)

2.2.2. Hormonas para sincronización de receptoras

- **Cipionato de estradiol**

El Cipionato de Estradiol (CPE) es un derivado semisintético de acción prolongada del 17 Beta Estradiol, hormona esteroidea sintetizada por el folículo ovárico, desarrollada para optimizar los resultados de los tratamientos con progestágenos en bovinos. Se trata de una formulación hormonal indicada para la corrección del anestro, tratamiento de cuerpos lúteos persistentes, piómetra, expulsión de placenta y fetos momificados retenidos. En vacas y vaquillonas se utiliza para la sincronización de celo en programas de inseminación artificial a tiempo fijo. En caninos, además está indicado como terapia de reposición en hembras castradas que sufren de incontinencia urinaria, tratamiento de pseudopreñez y para el tratamiento de la hipertrofia prostática. En bovinos y caninos puede ser utilizado para provocar la interrupción de la gestación no deseada. Su aplicación es por vía intramuscular. (Ulluguari, 2023)

- **Benzoato de estradiol**

El Benzoato de Estradiol es un derivado sintético del 17 b Estradiol, hormona esteroidea sintetizada por el folículo ovárico, desarrollada para optimizar los resultados reproductivos de los tratamientos con progestágenos en bovinos. Se trata de una formulación hormonal indicada para la expulsión de la placenta retenida, piómetra, inducción y sincronización del celo, y en toda situación que requiera suministrarse un estrógeno. (Guaman, 2022)

- **Progesterona**

Dispositivo intravaginal impregnado con progesterona, utilizado para la regulación del ciclo estral en bovinos. Control del ciclo estral en vaquillonas/novillas y vacas, tratamiento del anestro posparto y acortamiento del periodo parto concepción. (Alvarez, 2017)

- **Prostaglandina**

Se usa para la inducción del estro y sincronización en vacas, cerdas y yeguas:

Inducción del estro y sincronización en vacas; inducción del parto en vacas, cerdas y yeguas; inducción del estro en la yegua; disfunción ovárica en presencia del cuerpo lúteo; anestro post parto, celo silencioso, ciclo irregular y ciclo sin ovulación, cuerpo lúteo persistente, quistes luteínicos; endometritis, piómetra; interrupción de la gestación (durante la primera mitad), momificación fetal; metropatía post puerperal, involución uterina retardada; terapia combinada de quistes foliculares (10-14 días después de la administración de GnRH o HCG). (Agromel, 2023)

- **GnrH**

Según Ulluguari en el año 2023 los usos de la GnrH se dan en las siguientes especies:

Vacas: Trastorno de la fertilidad de origen ovárico, específicamente para quistes foliculares, aciclia, ovulación retardada, atresia folicular. Incremento del índice de concepción en la inseminación artificial y también tras la sincronización del celo.
Yeguas: Trastornos quísticos de los ovarios acompañados o no de celo prolongado o permanente. Inducción de la ovulación para fijar el tiempo de la ovulación y la monta; para mejorar el índice de concepción en celo prolongado o permanente.

- **Gonadotrofina coriónica equinas (ecG)**

Es una solución purificada de Gonadotropina Coriónica equina (eCG), fabricada mediante una metodología que permite obtener un producto con una relación estable de FSH/LH. Dado que posee un preponderante efecto folículo-estimulante (FSH) y acciones luteinizantes (LH) menos marcadas, la eCG actúa estimulando en forma directa el desarrollo folicular y en menor grado la ovulación en las vacas, ovejas y cabras. Los progestágenos (esponjas vaginales, implantes, dispositivos, etc.) utilizados en muchas especies en forma previa, inhiben la liberación de hormona luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH) de la hipófisis, deteniendo la ovulación hasta el momento deseado. Cuando los progestágenos son retirados, la concentración de progesterona en sangre cae rápidamente, por lo cual el animal entra en celo. los progestágenos, asegurando la sincronía de celos fértiles. (Gavilanez, 2023)

2.3. Técnicas de producción de embriones

2.3.1. Aspiración folicular y fertilización in vitro

En la actualidad, la recuperación de ovocitos se puede realizar en hembras muertas o de hembras vivas por punción transvaginal guiada ecográficamente (Ovum Pick-Up; OPU) y su posterior maduración, fecundación y cultivo in vitro permite la producción de embriones que pueden ser criopreservados o bien transferidos a hembras receptoras altamente preparadas. (Reateagui, 2020)

La aspiración transvaginal guiada por ultrasonido es la técnica de recolección de ovocitos de hembras vivas usada regularmente. La aspiración folicular puede ser repetida en el mismo animal durante 5-6 meses y una periodicidad de dos

aspiraciones por semana o una semanal, sin ningún efecto sobre la reproducción o el bienestar animal. Además, la OPU se puede aplicar durante los primeros tres meses de gravidez a novillas o vacas y a novillonas pre púberes con lo que se logra hacer más corto el intervalo generacional. La OPU-FIV permite obtener embriones de hembras con problemas de infertilidad o mala respuesta a los tratamientos superovulatorios. Se ha demostrado que al final del periodo de aspiraciones los animales pueden retornar a sus ciclos estrales normales y ser incorporados a sus programas de cría. La viabilidad de los embriones producidos a partir de los ovocitos obtenidos por aspiración es similar a la alcanzada por embriones producidos por otros procedimientos in vitro, pero un poco más baja que la obtenida, para embriones obtenidos por lavado, obteniéndose porcentajes de preñez que varían desde un 25-45 %. (Pelaez, 2019)

2.3.2. Procedimiento para aspiración folicular y fertilización in vitro

Según Alvarez (2017) el procedimiento para realizar la aspiración folicular y fertilización in vitro más utilizado en la actualidad.

- Aplicación de anestesia epidural
- Higiene de la zona de trabajo
- Armado de mango, ecógrafo y bomba de succión
- Introducción de la guía
- Sujeción del vario vía rectal
- Pinchazo al ovario
- Succión
- Filtrado de líquido obtenido
- Búsqueda y clasificación de ovocitos
- Colocación en cámara de fertilización
- Maduración de los ovocitos
- Análisis espermático
- Fertilización en cámara
- Maduración del embrión
- Clasificación de embriones

- Transferencia de embriones
- Crio preservación (vitrificación)

2.3.3. Producción de embriones in vivo

La producción de embriones in vivo desarrollada al inicio de 1970 está basada en la superestimulación del ovario para provocar una ovulación múltiple en las hembras donantes, en lugar de la ovulación sencilla que tiene lugar de forma natural. Las hembras se inseminan y los embriones se desarrollan en el útero, hasta que se extraen por medio de un lavado uterino o también conocido como lavado de embriones con circuito cerrado que se realiza 7 días después de la última inseminación cunado ya estén fertilizados los ovocitos. (Escribano, 2022)

Los embriones extraídos pueden transferirse a hembras receptoras que llevarán la gestación a término, o someterse a procesos de criopreservación, para ser utilizados posteriormente. De estos procesos, la congelación es la más adecuada para los embriones producidos in vivo. Inicialmente los procedimientos de extracción y de transferencia de embriones se realizaban de forma quirúrgica, pero desde los años ochenta se usan procedimientos de lavado uterino y transferencia no quirúrgicos (vía transcervical), lo que ha permitido la difusión de la técnica. En Europa durante el año 2011, se realizaron 23,480 lavados uterinos, de los que se obtuvieron 192,418 embriones, un 56,5% transferibles. El 93% del total de embriones de bovinos transferidos en ese periodo se obtuvieron por esta técnica (IETS, 2022)

La superovulación es una técnica utilizada para recolección de ovocitos/embriones in vivo, la demostración de que la gonadotropina sérica de yegua preñada (por sus siglas en inglés, PMSG) induce la ovulación múltiple, estableció las bases de la superovulación. La PMSG es una hormona presente en la sangre de la yegua entre los días 40 y 130 de la gestación además posee actividad biológica de FSH y LH, posteriormente se utilizó FSH de pituitaria porcina (FSH-p), la cual demostró tener una respuesta mayor y más consistente en la superovulación que la PMSG.

La superovulación se hace de 3 a 4 veces por vaca/año, si se estimula continuamente se puede causar desde una sobre estimulación de los ovarios hasta la formación de quistes foliculares o fibrosis ovárica. La dosis óptima de FSH-p a

utilizar varía entre 18 y 40 mg, las dosis totales se dividen en 2 aplicaciones diarias por 4 días o sea 8 aplicaciones. También se puede hacer una sola aplicación de la dosis total de FSH-p en la escápula, particularmente con ganado para producción de carne o cebú, los cuales son muy susceptibles al estrés (Borja, 2018)

Los embriones se extraen de forma no quirúrgica del útero después de la compactación, blastulación, durante la expansión preferentemente el 7° día después de la inseminación mediante lavado uterino transcervical, lo cual se ha establecido en todo el mundo para estandarizar su valoración y manipulación para su comercialización. En el día 7° los embriones son más fáciles de obtener y separar ya que se ubican en el extremo anterior del cuerno uterino y mediante el lavado son fácilmente arrastrados al exterior flotando en el medio, se encuentran en fase de blastocisto o mórula, fases muy estables, lo que hace posible que sean transferidos directamente o que sean sometidos a micro manipulación. La recogida de embriones se realiza a través de la vagina, bajo control rectal con una duración de 15 a 20 minutos. Para el lavado se utiliza una sonda flexible con balón inflable que se introduce con un mandril o fiador para hacerla rígida, a través de la vagina, cérvix y cuerpo uterino hasta uno de los cuernos. Con el extremo de la sonda en la curvatura mayor del cuerno uterino se retira el mandril o fiador de 8 a 10 cm, avanzando con cuidado la sonda en dirección craneal, se infla el balón con 10 a 20 ml de aire y se retira el mandril cuando el balón se encuentra más o menos 5 cm craneal a la bifurcación uterina, a la altura del ligamento intercornual. (Dominguez, 2020)

El lavado se hace con el medio en fracciones de 30 a 50 ml que fluyen, tras retirar la jeringuilla de la sonda. Con el medio lavado fluyendo es conveniente mover y masajear el cuerno uterino así los embriones localizados en criptas o pliegues son arrastrados por la corriente del medio hacia el exterior. Al finalizar el lavado de uno de los cuernos se infunde de nuevo de 20 a 50 ml de medio levantándose el extremo craneal del cuerno para posibilitar el reflujo del último resto del líquido acumulado. En total se estima necesario un litro de medio de lavado para ambos cuernos, aunque 250 ml por cuerno en vacas y en 180 ml novillas son suficientes. El medio resultante de la recogida se mantiene a temperatura ambiente hasta el aislamiento de los

embriones, debiéndose evitar oscilaciones de temperatura. Las tasas de recuperación de embriones mejoran cuando la sonda de lavado se coloca inmediatamente anterior a la bifurcación uterina en lugar de la punta del cuerno uterino (IETS, 2022)

2.4. Técnicas de criopreservación de embriones

Según Almeida (2016) constituye una biotécnica que posibilita, mediante la utilización de bajas temperaturas (-196 ºC N2), almacenar embriones de una amplia variedad de especies mamíferas sin que pierdan su capacidad de desarrollar y nacer vivos Actualmente los métodos más utilizados para criopreservar embriones son la congelación convencional y la vitrificación obteniendo beneficios posteriormente mencionados.

- Independizar en tiempo y espacio la producción de las receptoras
- Almacenamiento de germoplasma por tiempo indeterminado
- Comercialización de embriones
- Aumentar el progreso genético

2.4.1. Congelación convencional

La congelación es la técnica de elección para la criopreservación de embriones bovinos producidos in vivo. En este tipo de embriones, la congelación convencional ha permitido obtener resultados ligeramente inferiores a los registrados con embriones en fresco. Al mismo tiempo la introducción del etilenglicol como crioprotector permitió desarrollar la técnica de transferencia directa de embriones congelados-descongelados, posibilitando la aplicación de esta técnica en condiciones de campo, sin necesidad de remover el o los crioprotectores utilizados. Durante el procedimiento de congelación, las células embrionarias sufren cambios importantes asociados a la formación de hielo intra o extracelular que puedan disminuir la sobrevida poscriopreservación. Para poder minimizar estos problemas se han recurrido al uso de sustancias crioprotectoras, así como a tasas de descenso térmico controladas mediante la utilización de máquinas congeladoras programables de alto costo. Los crioprotectores son sustancias que protegen a las células durante su criopreservación con la finalidad de evitar el daño que puede

causar el agua intracelular al formar cristales de hielo durante la congelación. Los crioprotectores hacen que salga el agua contenida en el interior de las células y al deshidratarlas evita la formación interna de cristales de hielo a bajas temperaturas. Para la congelación suceden varias etapas. (Brito, 2020)

- **Enfriamiento inicial**

Se efectúa mediante la introducción de los embriones envasados en la criocámara de una maquina congeladora programable. Así, la muestra se enfría desde la temperatura de equilibramiento hasta alrededor de - 6°C. (Orosco A. , 2020)

- **Introducción de la cristalización o "seeding"**

Esto se efectúa luego de 5-7 minutos de introducidas las pajuelas en la criocámara, tocando el extremo de las pajuelas con un elemento metálico enfriado en N_2 liquido. Con este procedimiento se evita un sobreenfriamiento excesivo de la solución y, por lo tanto, se reduce el cambio de temperatura producido por la liberación de calor latente de cambio de estado. (Calle, 2022)

- **Descenso térmico lento y controlado**

Se efectúa utilizando maquinas congeladoras programables, desde la temperatura en la cual se induce el "seeding" hasta -30 a -40 °C y a tasa comprendidas entre -0,3 y -0,5 °C / minuto. De este modo se logra una deshidratación celular suficiente como para minimizar la cristalización intracelular. Descenso térmico rápido.- alcanzada la temperatura de -30 a -40 °C las pajuelas se introducen directamente en N_2 liquido. De este modo se alcanza, junto con el descenso térmico lento, una formación controlada de cristales de hielo en la solución de congelación, determinando finalmente la vitrificación del embrión y del medio que inmediatamente lo rodea. (Ochoa, 2021)

- **Almacenamiento de N_2 liquido**

Se efectúa en contenedores (termos) de N_2 liquido a -196°C.

La Descongelación debe efectuarse de manera rápida para impedir el crecimiento de los cristales de hielo desarrollados durante la congelación, para la descongelación las pajuelas son retiradas del N_2 e introducidas en baño María a 30°C aproximadamente. (Dominguez, 2020)

2.4.2. Vitrificación

Según Mendoza (2020) es una criopreservación ultrarápida realizada con concentraciones altas de crioprotectores para generar una textura vítrea y reducir la formación de cristales de hielo. En esta técnica es importante establecer una muy corta exposición al crioprotector y un volumen bajo de soluciones con el fin de evitar la toxicidad en las células. La vitrificación busca detener el metabolismo de las células de forma reversible, exponiéndolas al crioprotector y eliminando el agua intracelular para lograr una deshidratación y manteniendo la integridad celular a temperaturas de -196°C.esto siguiendo un proceso continuo.

- Descenso ultrarrápido de la temperatura
- Utilización de crioprotectores en altas concentraciones.
- Muestra vehiculizada en un pequeño volumen de solución lo cual posibilita aumentar la tasa de descenso térmico y/o disminuir la concentración de crioprotectores

- **Exposición de los embriones a las soluciones de vitrificación**

Las soluciones de vitrificación están formuladas con una combinación de crioprotectores (penetrantes y no penetrantes), un soporte liquido (PBS) y macromoléculas (suero, BSA) estas soluciones se caracterizan por contener altas concentraciones de crioprotectores. En los últimos años se ha puesto énfasis en evitar la utilización de suero en la formulación final de las soluciones de vitrificación. (Almeida, 2016)

- **Envasado de los embriones en recipientes apropiados y en pequeños volúmenes**

Se ha utilizado con éxito las pajuelas de 0,25 ml de capacidad. Sin embargo, en búsqueda de la conservación de ovocitos y embriones en pequeños volúmenes, se ha utilizado exitosamente grillas de microscopia electrónica, pajuelas de 0,25 ml abiertas y estiradas. (Orozco, 2020)

- **Descenso ultrarrápido de la temperatura (vitrificación)**

Se lleva a cabo en un solo paso introduciendo el soporte del embrión directamente en N_2 liquido, o en dos pasos, enfriándolo previamente durante un corto tiempo en lo vapores del mismo. La introducción de las pajuelas de 0,25ml conteniendo soluciones de vitrificación en N_2 líquido permite alcanzar tasas de descenso térmico del orden de los 2.500°C/minuto, mientras que con OPS determinaron tasas de 22.500°C/minuto entre -25 y -175°C. Calentamiento rápido de los embriones hasta temperaturas fisiológicas. - se introduce la pajuela en un baño María a 20 °C o a temperaturas comprendidas entre los 30 y 39 °C durante pocos segundos. (Pelaez, 2019)

- **Extracción de los crioprotectores**

Una vez calentadas las pajuelas los crioprotectores penetrantes deben ser retirados de los embriones e inmediatamente deben ser rehidratados. Por ello se utiliza un buffer osmótico en una concentración suficiente para alcanzar una osmolaridad ligeramente inferior a la de la solución de vitrificación, este buffer (sacarosa) puede o no estar en la misma pajuela. (Chile, 2021)

2.5. Evaluación de embriones

La evaluación de los embriones bovinos, se la realiza en una caja Petri, con la ayuda de un estéreomicroscopio con ampliación de 50 a 100x, para ver al embrión y la zona pelúcida desde diferentes perspectivas. El diámetro de un embrión va de los 150 a 190 μm, mientras el diámetro de la zona pelúcida oscila entre 12 a 15 μm. Un embrión ideal debe presentar un color y textura adecuada, un tamaño referencial,

debe ser esférico compacto; en el espacio perivitelino no debe presentar desechos celulares, su color es claro; la zona pelúcida debe presentar en su periferia ninguna rasgaduras, corte o deformación para una correcta implantación del embrión. (Pinto, 2023)

De acuerdo a las normas IETS en el año 2021, el código para clasificar la calidad embrionaria basada en la integridad morfológica de los embriones es de tipo numérico. Los códigos de calidad embrionaria varían de 1 a 4.

1. **Excelente. -** masa embrionaria esférica y simétrica, con células (blastómeros) uniformes en cuanto a tamaño, color y densidad. Las irregularidades deberían ser relativamente menores, y al menos el 85% del material celular debería ser una masa embrionaria intacta y viable. La zona pelúcida deberá presentar superficies lisas, sin superficies cóncavas, planas o delgadas que pudieran causar adhesión de los embriones al material utilizado durante las manipulaciones.
2. **Bueno. -** Irregularidades moderadas en cuanto al aspecto, forma, tamaño, color y densidad de las células. Al menos el 50% del material celular deberá encontrarse intacto y correspondería con una masa embrionaria viable.
3. **Regular. -** Irregularidades mayores en la forma y tamaño de la masa embrionaria, así como en el tamaño, color y densidad de células individuales. Al menos el 25% del material celular deberá encontrarse intacto y correspondería con una masa embrionaria viable.
4. **Malo (muerto o degenerado). -** Embrión, ovocito y embriones de 1 célula degenerados, no viables.

2.6. Diagnóstico de gestación por ultrasonido

En la práctica ecográfica a partir de día 25 de gestación se puede observar el cuerpo embrionario, mientras los latidos del corazón nos indica que el mismo esta con vida. Es posible detectar latidos cardiacos fetales con ultrasonido aproximadamente desde el día 21 de gestación, pero se detecta con mayor facilidad en el día 25 o más de gestación. Con la incorporación de las nuevas tecnologías como el ultrasonido Doppler permite una evaluación más detallada del útero, folículos y cuerpo lúteo

para un mejor diagnóstico de gestación, ya que este nos permite observar el flujo sanguíneo dentro de los tejidos y estructuras. (Bravo, 2023)

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación y características de la investigación

- **Localización de la investigación**

La presente investigación se realizó en el sector Pablo Sexto perteneciente al cantón Pablo Sexto, provincia de Morona Santiago.

- **Situación geográfica y climática**

Altitud	1454 msnm
Latitud	01° 48' 11" S
Longitud	77° 55' 16" W
Temperatura máxima	27 ºC
Temperatura mínima	7 ºC
Temperatura media anual	19 °C
Humedad relativa media anual	86%
Precipitación	3500 mm

Fuente: (Plan de Ordenamiento Territorial del cantón Pablo Sexto, 2021)

- **Zona de vida**

El Cantón Pablo Sexto posee 6 zonas de vida que van desde los 700 hasta los 4330 msnm, correspondiendo al bosque Pre montano, Bosque Montano Bajo, Bosque Montano. (Holdridge 2021)

3.2. Metodología

3.2.1. Material experimental

- 20 hembras bovinas

3.2.2. Factores en estudio

Factor A: Técnica de transferencia de embriones

A1: Transferencia de embriones obtenidos in vivo
A2: Transferencia de embriones obtenidos in vitro

3.2.3. Tratamientos

Tabla 2

Tratamientos de la investigación

Tratamiento	Detalle
T1	Transferencia de embriones obtenidos in vivo
T2	Transferencia de embriones obtenidos in vitro

3.2.4. Tipo de diseño experimental o estadístico

Para la presente investigación se utilizó un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) con dos repeticiones.

3.2.5. Manejo del experimento en campo

- **Visita in situ**

Mediante la visita in situ se llegó a un dialogo con el propietario de los animales que se tomaron como unidades experimentales, se analizó cada una de ellas que cumplan con requisitos similares en cuanto a edad, peso, etc.

Al propietario se le explicó de que trata el desarrollo del proyecto y como se beneficiaría; posterior a su aprobación, se realizó la selección de las unidades experimentales.

- **Examen clínico general**

Se realizó el examen clínico orientado a problemas (ECOP), en el cual interviene la observación, palpación y auscultación, mediante los cuales se podrá revisar a las

hembras la presencia de parásitos externos (tupes, garrapatas) mediante la observación, la condición corporal mediante la palpación de sus reservas cárnicas (flancos), y la auscultación se realizó para determinar la presencia de movimientos ruminales, además se observó durante el recorrido y entrevista al técnico sobre la alimentación de cada animal, sin la necesidad de la utilización de equipos.

- **Examen clínico particular**

Se desarrolló un examen particular de cada hembra con la utilización de equipos como el ecógrafo portátil en campo para analizar cada animal, así verificar su condición o estado ovárico con el mismo que se pudó determinar patologías a nivel del aparato reproductor de la hembra, si el animal estuvo ciclando y presencia de estructuras ováricas.

- **Selección de las unidades experimentales**

Para ello se realizó una ecografía a cada animal que cumple con la edad, peso, condición corporal y número de partos similares, y el tamaño ovárico; con el propósito de tener un grupo homogéneo como unidades experimentales e inicio del desarrollo del trabajo de campo.

3.2.6. Métodos de evaluación (variables respuesta)

- **Edad**

La edad en procesos de obtención de embriones es muy fundamental más si se trata de una categorización entre una vaca y una vacona o novilla, para esta investigación fueron utilizadas vacas de entre 3-5 años aquellas con los ovarios ya desarrollados para poder obtener la mayor cantidad posible de embriones. (Lozada, 2022)

- **Condición corporal**

Según Bergucci (2019) la condición corporal en bovinos, es una variable que se determinó mediante la visualización corporal y palpación manual de su nivel de reservas corporales (Flancos) del animal, esta se establece en un rango de 1 al 5 según ,donde 1-2 son animales calificados como flacos o delgados, 3 considerados

condición ideal y 4-5 establecidos como obesos, se aplicó esta escala en cada uno de los animales (hembras) de la hacienda previos a ser seleccionadas como unidades experimentales. Para la investigación se utilizó un rango entre 2-3 donde la condición corporal esta moderada.

- **Tamaño de cuerpo lúteo**

El tamaño del cuerpo lúteo es muy fundamental en los procesos de transferencia de embriones ya que entre más grande el cuerpo lúteo mayor producción de progesterona y por consecuente una mayor taza de preñez para ello se utilizó ultrasonografía para determinar el tamaño del cuerpo lúteo, aquel que sea mayor a 3 cm produce una cantidad mayor a 5 ug de progesterona fundamental para mantener una gestación. (Minchala, 2023)

- **Calidad embrionaria**

Se realizó en el laboratorio de la hacienda mediante microscopia comparando cada estructura obtenida posteriormente de la extracción embrionaria, con la escala de la IETS de embriones, obteniendo mórulas, blastocitos en sus diferentes etapas. (Minchala, 2023)

- **Criopreservación de embrión**

Se refiere a las técnicas bajo las cuales se conservaron los embriones obtenidos para su posterior transferencia, como lo son la vitrificación y congelación directa. Cada una de ellas lleva una característica única y especial de acuerdo a cada técnico responsable de las transferencias. (Almeida, 2016)

- **Taza de preñez**

Se realizó mediante ultrasonografía detectando cada uno de los signos que determinan una preñez en los bovinos, se realizó un análisis de medias porcentuales para determinar así la taza de preñez sea de un toro o alguna técnica de reproducción asistida. (IETS, 2022)

3.2.7. Análisis de datos

El análisis de datos (Anexo 2) se lo realizó en el programa estadístico InfoStat, en el cual se aplicó lo siguiente:

- Análisis de Varianza (ADEVA), según el siguiente detalle:

Tabla 3

Análisis de varianza

Fuentes de variación	Grados de libertad	C.M.E*
Bloques (r-1)	1	f^2 e + 5 f^2 bloques
Tratamiento (t-1)	1	f^2 e + 3Θ^2 t
Error Experimental (t-1) (r-1)	1	f^2 e
Total (t x r)-1	4	

*****Cuadrados Medios Esperados.

- Prueba de Tukey al 5% para promedios de tratamientos

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1.1 Edad de las hembras bovinas

Tabla 4

Análisis de la varianza de la edad de las hembras bovinas

Edad					
F.V.	**SC**	**gl**	**CM**	**F**	**p-valor**
Modelo	0	2	0	sd	sd
Tratamiento	0	1	0	sd	sd (NS)
Repetición	0	1	0	sd	sd
Error	0	17	0		
Total	0	19			

Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

De acuerdo a los resultados de la investigación en relación a la edad de las hembras bovinas, no se observaron diferencias entre los tratamientos (NS), porque no existe un p-valor, lo que indica que, dentro de la investigación las hembras bovinas fueron de la misma edad. La media general es de 4 años y un coeficiente de variación del 0%.

Tabla 5

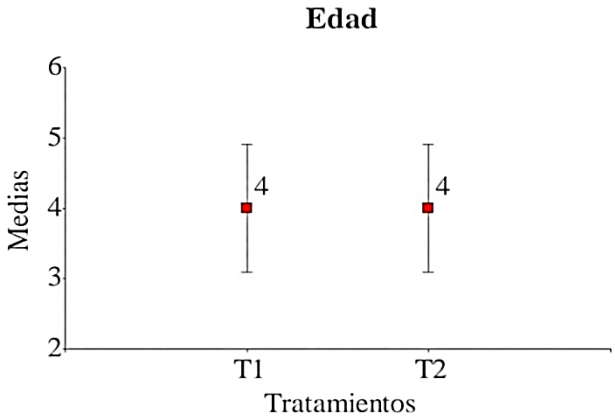
Prueba de Tukey al 5% de la edad de las hembras bovinas

Tratamiento	Medias	n	E.E.	Rango
1	4	10	0.00	A
2	4	10	0.00	A

Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

Figura 1

Edad de las hembras bovinas



Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

De acuerdo a los resultados de la investigación en relación a la edad de las hembras bovinas, no se observaron diferencias entre los tratamientos (NS), porque no existe un p-valor, lo que indica que, dentro de la investigación las hembras bovinas fueron de la misma edad. La media general es de 4 años y un coeficiente de variación del 0%.

Según los resultados obtenidos de la edad de las hembras bovinas, se puede observar que, dentro de las dos técnicas de transferencia de embriones, el 100% de las hembras presentaron una edad dentro los 4 años. Se menciona que la edad óptima para realizar este tipo de procesos en hembras donantes oscila entre 3-6 años de edad, debido a que sus ovarios están en el tamaño ideal y de esta manera el reclutamiento folicular es exitoso.

En su investigación Reyes (2023), que comparaba 2 tipos de hormonas para producción de embriones indica que el 62.5% de hembras bovinas utilizadas en su investigación se encuentra dentro del rango de edad de 4 – 6 años, lo cual es diferente a esta investigación en la que utilizamos un 100% de unidades experimentales entre los 4 años de edad.

4.1.2. Condición corporal de las hembras bovinas

Tabla 6

Análisis de la varianza de la condición corporal de las hembras bovinas

Condición corporal					
F.V.	**SC**	**gl**	**CM**	**F**	**p-valor**
Modelo	0	2	0	sd	sd
Tratamiento	0	1	0	sd	sd (NS)
Repetición	0	1	0	sd	sd
Error	0	17	0		
Total	0	19			

Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

En base a los resultados obtenidos de la condición corporal de las hembras bovinas, se observaron similitudes entre los tratamientos (NS), porque no existe un p-valor, lo que indica que, ninguna de las técnicas de transferencia de embriones influenció en la condición corporal, obteniendo un coeficiente de variación del 0.00% y una media general de 3/5.

Tabla 7

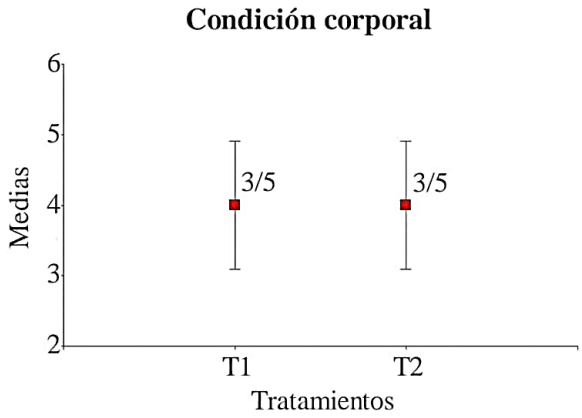
Prueba de Tukey al 5% de la condición corporal de las hembras bovinas

Tratamiento	**Medias**	**n**	**E.E.**	**Rango**
1	3/5	10	0,00	A
2	3/5	10	0,00	A

Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

Figura 2

Condición corporal de las hembras bovinas



Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

En base a los resultados obtenidos de la condición corporal de las hembras bovinas, se observaron similitudes entre los tratamientos (NS), porque no existe un p-valor, lo que indica que, ninguna de las técnicas de transferencia de embriones influenció en la condición corporal, obteniendo un coeficiente de variación del 0.00% y una media general de 3/5

Al analizar los resultados de la presente investigación con respecto a la condición corporal, se demuestra que las hembras presentaron una condición corporal 3/5 en los dos tratamientos, lo que nos indica que presentaron un buen balance de esqueleto y tejidos superficiales, la cual es la condición corporal ideal para realizar técnicas de reproducción animal como IA, OPU, SOV.

Según Echeverría (2023), en su investigación sobre inseminación y transferencia de embriones indica que las hembras bovinas utilizadas como unidades experimentales presentaron una condición corporal de 3/5, lo cual presenta una similitud con esta investigación dado que las hembras bovinas también se encontraron en una condición corporal de 3/5 en una escala de 0-5 considerando 3 como ideal.

4.1.3. Tamaño del cuerpo lúteo

Tabla 8

Análisis de la varianza del tamaño del cuerpo lúteo

Tamaño de cuerpo lúteo					
F.V.	**SC**	**gl**	**CM**	**F**	**p-valor**
Modelo	0.2	2	0.10	0.97	0.3986
Tratamiento	0	1	0.00	0.00	>0.9999 (NS)
Repetición	0.2	1	0.20	1.94	0.1813
Error	1.75	17	0.10		
Total	1.95	19			

Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

De acuerdo a los resultados de la investigación en relación al tamaño del cuerpo lúteo, no se observaron diferencias entre los tratamientos (NS), porque el p-valor de los tratamientos es mayor a 0.05, lo que indica que, dentro de la investigación ninguna de las técnicas de transferencia de embriones influenció en el tamaño de cuerpo lúteo. La media general es de 2.95 cm y un coeficiente de variación del 10.88%.

Tabla 9

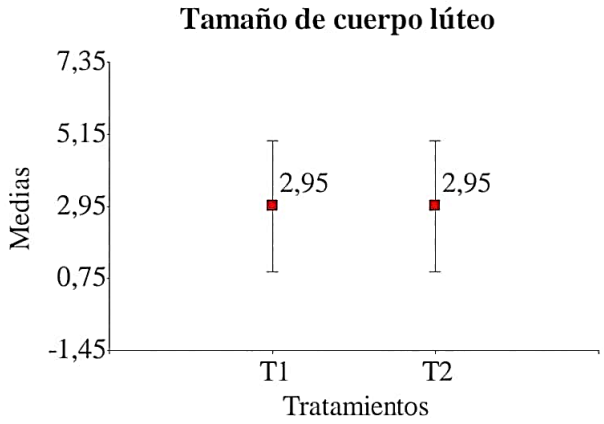
Prueba de Tukey al 5% del tamaño del cuerpo lúteo

Tratamiento	**Medias**	**n**	**E.E.**	**Rango**
1	2.95	10	0.10	A
2	2.95	10	0.10	A

Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

Figura 3

Tamaño del cuerpo lúteo



Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

De acuerdo a los resultados de la investigación en relación al tamaño del cuerpo lúteo, no se observaron diferencias entre los tratamientos (NS), porque el p-valor de los tratamientos es mayor a 0.05, lo que indica que, dentro de la investigación ninguna de las técnicas de transferencia de embriones influenció en el tamaño de cuerpo lúteo. La media general es de 2.95 cm y un coeficiente de variación del 10.88%.

Según los resultados obtenidos con respecto al tamaño de cuerpo lúteo, se puede observar que en la técnica in vivo e in vitro se obtuvo un promedio de tamaño de cuerpo lúteo de 2.95 cm. Estos resultados se deben gracias al tipo de alimentación que consumieron las hembras antes de su etapa reproductiva como balanceados y sales minerales para terneras de levante.

En su investigación Reyes (2023), indica que tiene un promedio de 25% de las unidades experimentales en el tamaño del cuerpo lúteo de 3 cm, lo cual difiere con la investigación en la cual utilizamos unidades entre 2,5 – 3,5 cm que nos garantiza que nos aportara la cantidad de progesterona ideal para una aceptación del embrión, del mismo modo menciona que un buen desarrollo folicular depende mucho del tamaño del ovario que a su vez permite el desarrollo del cuerpo lúteo el cual genera concentraciones plasmáticas de progesterona ofreciendo un medio uterino adecuado para el desarrollo del embrión.

4.1.4. Disposición del cuerpo lúteo

- **Ovario derecho**

Tabla 10

Análisis de la varianza de la disposición del cuerpo lúteo ovario derecho

Disposición de cuerpo lúteo ovario derecho					
F.V.	**SC**	**gl**	**CM**	**F**	**p-valor**
Modelo	0.5	2	0.25	1.05	0.3718
Tratamiento	0.05	1	0.05	0.21	0.6527 (NS)
Repetición	0.45	1	0.45	1.89	0.1872
Error	4.05	17	0.24		
Total	4.55	19			

Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

En base a los resultados obtenidos en la disposición del cuerpo lúteo en el ovario derecho, se observaron similitudes entre los tratamientos (NS), porque el p-valor de los tratamientos es mayor a 0.05, lo que indica que, ninguna de las técnicas de transferencia de embriones influenció en la disposición de cuerpo lúteo en el ovario derecho en mayor porcentaje en los dos tratamientos, obteniendo un coeficiente de variación del 75.09% y una media general de 65%.

Tabla 11

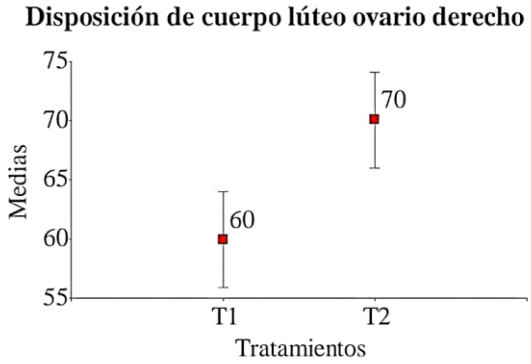
Prueba de Tukey al 5% de la disposición del cuerpo lúteo ovario derecho

Tratamiento	**Medias**	**n**	**E.E.**	**Rango**
1	60	10	0.15	A
2	70	10	0.15	A

Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

Figura 4

Disposición del cuerpo lúteo ovario derecho



Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

- **Ovario izquierdo**

Tabla 12

Análisis de la varianza de la disposición del cuerpo lúteo ovario izquierdo

Disposición de cuerpo lúteo ovario izquierdo					
F.V.	**SC**	**gl**	**CM**	**F**	**p-valor**
Modelo	0.5	2	0.25	1.05	0.3718
Tratamiento	0.05	1	0.05	0.21	0.6527 (NS)
Repetición	0.45	1	0.45	1.89	0.1872
Error	4.05	17	0.24		
Total	4.55	19			

Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

De acuerdo a los resultados de la investigación en relación a la disposición del cuerpo lúteo en el ovario izquierdo, no se observaron diferencias entre los tratamientos (NS), porque el p-valor de los tratamientos es mayor a 0.05, lo que indica que, ninguna de las técnicas de transferencia de embriones influenció en la disposición de cuerpo lúteo en el ovario izquierdo en menor porcentaje en los dos tratamientos. La media general es de 35% y un coeficiente de variación del 139.46%.

Tabla 13

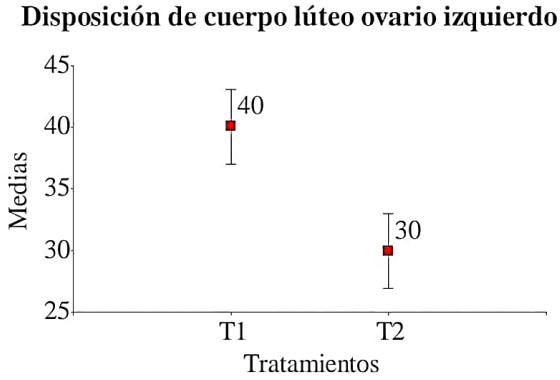
Prueba de Tukey al 5% de la disposición del cuerpo lúteo ovario izquierdo

Tratamiento	Medias	n	E.E.	Rango
2	30	10	0.15	A
1	40	10	0.15	A

Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

Figura 5

Disposición del cuerpo lúteo ovario izquierdo



Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

Al analizar los resultados de la presente investigación con respecto a la disposición del cuerpo lúteo, se demuestra que en la técnica in vivo e in vitro el mayor porcentaje de la disposición corresponde al ovario derecho con el 60% y el 70%, mientras que el menor promedio corresponde al ovario izquierdo con 40% y 30% respectivamente. estos datos fueron importantes para determinar la actividad reproductiva de las hembras bovinas antes de iniciar con el proyecto, constatando que tenían un ciclo estral normal.

Según Reyes (2023), en su investigación indica la disposición del cuerpo lúteo se encontró en el ovario derecho con un 37.5% y el ovario izquierdo con 62.5, lo cual difiere con esta investigación que se obtuvo una disposición del 60 y 70% en el ovario derecho y un 30 y 40% en el ovario izquierdo.

4.1.6. Calidad embrionaria

Tabla 14

Análisis de la varianza de la calidad embrionaria

Calidad embrionaria					
F.V.	**SC**	**gl**	**CM**	**F**	**p-valor**
Modelo	0	2	0	sd	sd
Tratamiento	0	1	0	sd	sd (NS)
Repetición	0	1	0	sd	sd
Error	0	17	0		
Total	0	19			

Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

En base a los resultados obtenidos en la variable calidad embrionaria, se observaron similitudes entre los tratamientos (NS), porque no existe un p-valor, lo que indica que, ninguna de las técnicas de transferencia de embriones influenció en calidad embrionaria, obteniendo un coeficiente de variación del 0.00% y una media general de Grado 1.

Tabla 15

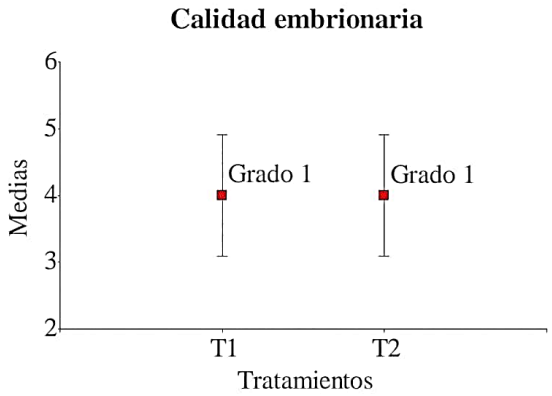
Prueba de Tukey al 5% de la calidad embrionaria

Tratamiento	**Medias**	**n**	**E.E.**	**Rango**
1	Grado 1	10	0.00	A
2	Grado 1	10	0.00	A

Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

Figura 6

Calidad embrionaria



Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

En base a los resultados obtenidos en la variable calidad embrionaria, se observaron similitudes entre los tratamientos (NS), porque no existe un p-valor, lo que indica que, ninguna de las técnicas de transferencia de embriones influenció en calidad embrionaria, obteniendo un coeficiente de variación del 0.00% y una media general de Grado 1.

Según los resultados obtenidos con respecto a la calidad embrionaria, se puede observar que en las dos técnicas de transferencia de embriones la calidad embrionaria corresponde a Grado 1 en donde los ovocitos se encontraban completamente rodeados con más de tres capas de células del cumulus y citoplasma uniformemente granulado.

En su investigación de transferencia de embriones Reyes (2023), nos menciona que obtuvo una calidad embrionaria de Grado 1 en un 93.75%, lo cual presenta cierta similitud con esta investigación debido a que se obtuvo el 100% de calidad embrionaria de Grado 1 para garantizar una efectividad en los resultados en los dos tratamientos y que no exista alteración alguna.

4.1.7. Taza de preñez

Tabla 16

Análisis de la varianza de la taza de preñez

Taza de preñez					
F.V.	**SC**	**gl**	**CM**	**F**	**p-valor**
Modelo	0.1	2	0.05	0.18	0.8407
Tratamiento	0.05	1	0.05	0.18	0.6807 (NS)
Repetición	0.05	1	0.05	0.18	0.6807
Error	4.85	17	0.29		
Total	4.95	19			

Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

De acuerdo a los resultados de la investigación en relación a la taza de preñez, no se observaron diferencias entre los tratamientos (NS), porque el p-valor de los tratamientos es mayor a 0.05, lo que indica que, ninguna de las técnicas de transferencia de embriones influenció en la taza de preñez. La media general es de 45% y un coeficiente de variación del 118.70%.

Tabla 17

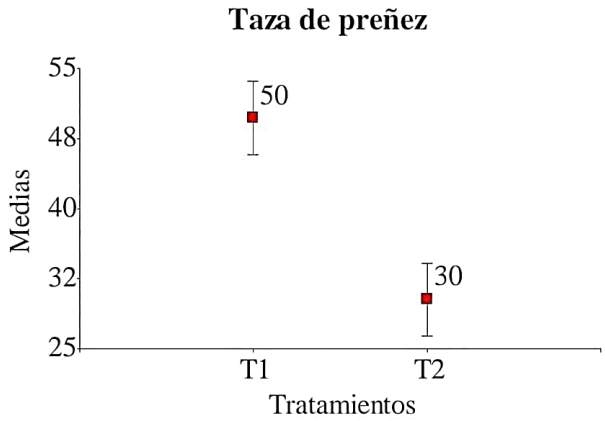
Prueba de Tukey al 5% de la taza de preñez

Tratamiento	Medias	n	E.E.	Rango
2	40	10	0,17	A
1	50	10	0,17	A

Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

Figura 7

Taza de preñez



Nota: Obtenido del programa InfoStat/E

Al analizar los resultados de la presente investigación con respecto a la taza de preñez, se demuestra que en la técnica in vivo obtuvo un 50% de vacas preñadas y no preñadas, en cambio la técnica in vitro obtuvo menor taza de preñez teniendo un 30% de vacas preñadas y un 60% de vacas no preñadas. Se menciona que el tamaño del cuerpo lúteo tiene un efecto en las tasas de gestación después de la transferencia de embriones, se observa que la tasa de preñez es mayor a medida que el tamaño de cuerpo lúteo es mayor.

Según Echeverría (2023), en su investigación indica que obtuvo una taza de preñez del 50% en transferencia de embriones in vivo, lo cual presenta una similitud con el presente debido que se obtuvo una taza de preñez entre el 30% en transferencia de embriones in vitro y 50% en transferencia de embriones in vivo.

4.2. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Una vez concluido con la investigación de campo, y mediante los resultados obtenidos y en relación a la hipótesis planteada se logró demostrar que existen diferencias entre las dos técnicas de transferencia de embriones, por ende, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, la misma que señala: “La taza de preñez por transferencia de embriones si depende de la técnica de producción y obtención”. Sin embargo, el T1 correspondiente a embriones obtenidos in vivo presento una mayor taza de preñez que el T2 con una diferencia del 20%.

CAPÍTULO V

5.1. CONCLUSIONES

- Al evaluar los embriones crio preservados tanto los producidos in vivo mediante congelación directa y los producidos in vito mediante vitrificación se determinó que todos los embriones que serán utilizados deberán mantener la forma de su macizo celular en un 90% de integridad celular clasificándolos como embriones grado uno en un 100% de muestras para garantizar que los resultados no se vean alterados por la evaluación de este parámetro que es muy importante en la taza de preñez.
- Con respecto a la disposición del cuerpo lúteo, se demuestra que en el ovario derecho de la mayoría de las hembras se encontraba el cuerpo lúteo con un porcentaje de 60 y 70% para las dos técnicas, mientras que en el ovario izquierdo se alcanzó porcentajes de 40 y 30%, estos datos fueron de suma importancia para determinar la actividad reproductiva de cada una de las hembras.
- Al comparar los datos obtenidos en porcentajes en relación a la taza de preñez, se demuestra que la técnica in vivo presentó una igual de hembras preñadas y no preñadas, mientras que la técnica in vitro obtuvo una menor taza de hembras preñadas, determinando así que esta variable depende del tamaño del cuerpo lúteo y del manejo al momento de realizar la implantación.
- Se concluye que a pesar de obtener animales con altos índices de homogeneidad tanto en estructuras reproductivas y embriones de igual calidad cumpliendo con una similitud en la mayoría de factores que influyen en la taza de preñez los resultados pueden variar en dependencia de otros factores como pueden ser climáticos o propios del animal.

5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios que consideren la endocrinología y fisiología reproductiva de las receptoras y el seguimiento del proceso de maduración del embrión.

- Es importante tener en cuenta que la transferencia de embriones en bovinos es una técnica avanzada que requiere experiencia y cuidado en su aplicación, por lo cual se sugiere que se la realice con profesionales capacitados como los médicos veterinarios.

- Realizar este tipo de investigación en otras provincias del Ecuador y en otra raza de bovino, para evaluar el efecto de las dos técnicas evaluadas en la presente investigación.

- Se recomienda utilizar la técnica de producción y obtención de embriones in vivo para obtener mejores resultados en tazas de preñez en la raza charoláis, cabe recalcar que en otras razas se puede diferir u obtener similitud en los resultados ya que cada raza obtiene diferentes estándares de manejo.

BIBLIOGRAFÍA

(IETS), I. E. (11 de diciembre de 2022). *International embryo technology society*. Obtenido de international embryo technology society: https://www.iets.org/

Agromel. (22 de Abril de 2023). *Agromel*. Obtenido de Agromel: https://www.agromel.com/index.php?option=com_content&view=article&id=183:estrogest&catid=43&Itemid=105

Almeida, A. (2016). *La criopreservacion de embriones.* Medellin.

Alvarez, v. (2017). *Aspiracion folicular en bovinos.* Mexico.

Borja, A. (Mayo de 2018). *Rincon pecuario.* Obtenido de Rincon pecuario .

Bravo, O. B. (2023). *Los Procesos Reproductivos De La Vaca Y El Uso De La Ultrasonografia.* Mexico: Scielo Mex.

Brito, A. (2020). *Manual de transferencia de embriones.* Paraguay: ProCiencia, conacyt.

Calle, C. (12 de octubre de 2022). Congelacion de embriones. (J. Buestan, Entrevistador)

CHILE, U. D. (12 de 26 de 2021). *Monografias medicina veterinaria*. Obtenido de monografias medicina veterinaria: https://web.uchile.cl/vignette/monografiasveterinaria/monografiasveterinaria.uchile.cl/CDA/mon_vet_simple/0,1420,SCID%253D18405%2526ISID%253D442%2526PRT%253D18401,00.html

Dominguez, R. (2020). *Manual de transferencia de embriones.* Paraguay: CONACYT.

Escribano, E. (23 de Julio de 2022). Produccion de embriones. (J. Buestan, Entrevistador)

Escribano, E. (16 de Diciembre de 2022). Transferencia de embriones. (J. Buestan, Entrevistador) Macas, Morona Santiago, Ecuador.

Gavilanez, R. d. (23 de Abril de 2023). Hormonas para sincronizacion de receptoras. (J. Buestan, Entrevistador)

Guaman, P. (30 de octubre de 2022). Hormonas de uso veterinario. (J. Buestan, Entrevistador)

IMF, C. (22 de Agosto de 2022). *easyfiv imf*. Obtenido de easyfiv imf: https://imfertilidad.com/blog/como-congelamos-los-ovulos-y-los-embriones-la-vitrificacion/

Lozada, D. E. (5 de Noviembre de 2022). Edad optima para obtencion de embriones. (J. Buestan, Entrevistador)

Martin, L. (2012). *Enciclopedia embriologica* (Vol. 2). La Cruz, Jalisco, Mexico: Workan.

Mendoza, D. F. (2020). *Efecto del protocolo de vitrificación y sistemas de empaque sobre la tasa de supervivencia de embriones ovinos obtenidos in vivo.* Bogota: universidad nacional colombia.

Minchala, I. (11 de febrero de 2023). Calidad Embrionaria. (J. Buestan, Entrevistador)

Ochoa, J. (2021). *Criopreservacion de embriones bovinos.* Cuenca: universidad de cuenca.

Orosco, A. (2020). *Formación en producción in vitro de embriones y biotecnologías reproductivas aplicadas al mejoramiento genético de los hatos ganaderos en Antioquia* . Medellin: Universidad CES.

Orosco, J. R. (15 de noviembre de 2020). *universidad ces medellin,colombia*.

Pedrosa, C. (27 de Noviembre de 2020). *Clinica Pedrosa*. Obtenido de https://cpedrosa.com/congelacion-de-embriones-etapas/

PELAEZ, V. (2019). *Produccion in vitro de embriones bovinos.* Cuenca: universidad de cuenca.

Pinto, S. M. (2023). *Actualización en producción de embriones bovinos.* Bucaramanga: Universidad Cooperativa de Colombia.

Reateagui, E. (2020). Compendio de Reproduccion . En *Compendio de reproducion* (pág. 168). Peru: Induchy.

Saavedra, L. (25 de Mayo de 2021). *CienciaUniSalle*. Obtenido de CienciaUniSalle: https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/967/

Tribulo, A. (Junio de 2019). Superovulaciòn en vacas donantes de embriones. *Superovulacion de vacas donantes de embriones*. Cordoba, argentina: universidad nacional de cordoba.

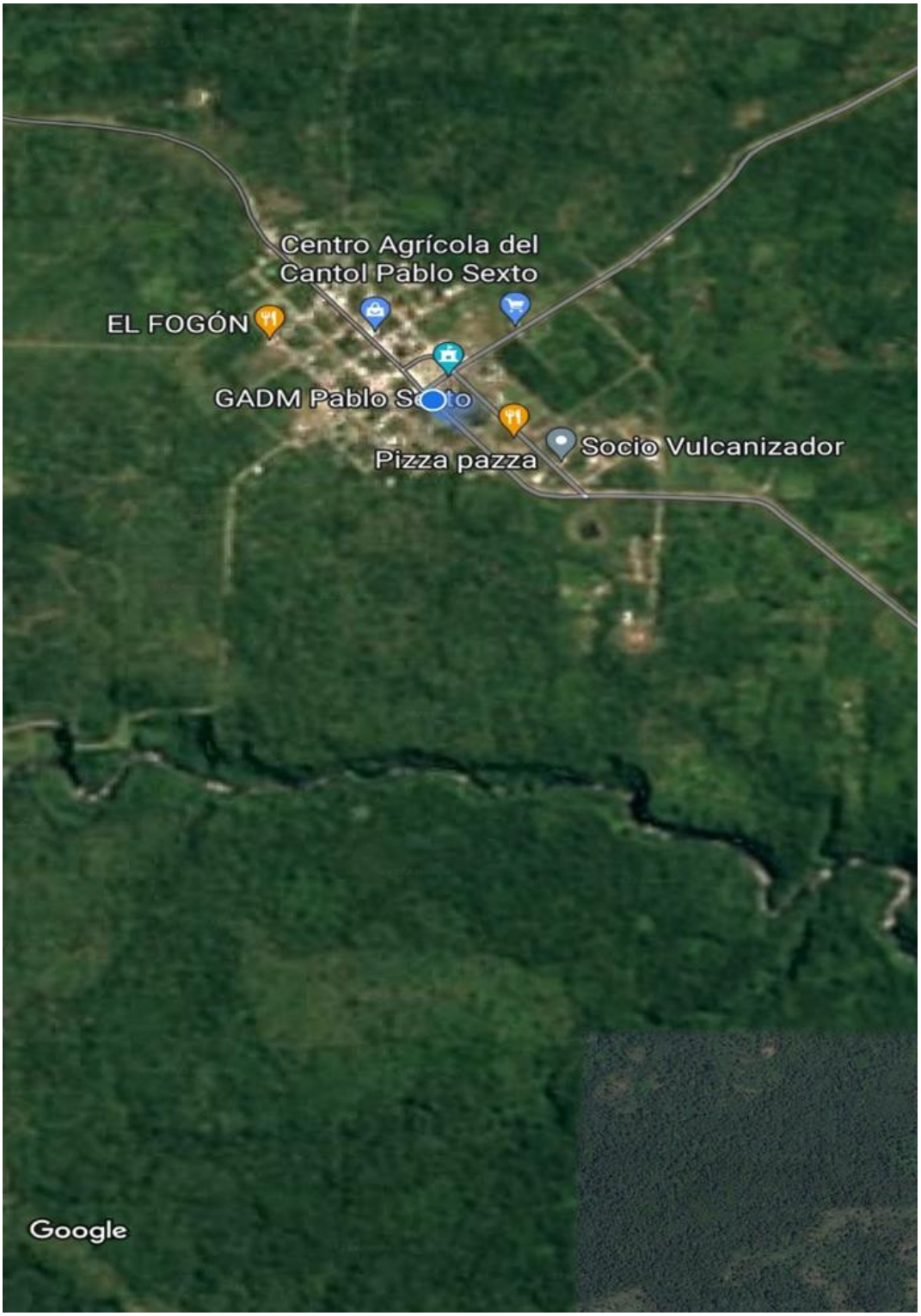
Tribulo, R. (11 de ENERO de 2014). *International embryo technology society*. Obtenido de international embryo technology society: https://www.iets.org/Committees/Data-Retrieval-Committee

Ulluguari, R. d. (14 de Marzo de 2023). Hormonas para sincronización. (J. Buestan, Entrevistador)

Yuste, F. (19 de diciembre de 2009). *SERAGRO*. Obtenido de SERAGRO: http://srvcloudseragro.opensoftsi.es:81/index.php/reproduccion/57-prostaglandinas-es-control-reproductivo-en-explotaciones-de-vacuno-lechero

ANEXOS

Anexo 1. Mapa de ubicación de la investigación



Anexo 2. Base de datos

Identificación	T	R	Código	Criopreservación de embrión	Edad	Condición corporal	Tamaño de cuerpo lúteo	Disposición de cuerpo lúteo		Calidad embrionaria	Taza de preñez
								Ovario derecho	Ovario izquierdo		
1	1	1	HO14	Congelación convencional	4	3/5	3	1	0	Grado 1	1
2	1	1	HO15	Congelación convencional	4	3/5	2.5	1	0	Grado 1	0
3	1	1	CG22	Congelación convencional	4	3/5	2.5	1	0	Grado 1	0
4	1	1	CH1	Congelación convencional	4	3/5	3	0	1	Grado 1	1
5	1	1	BS002	Congelación convencional	4	3/5	3	1	0	Grado 1	1
6	1	2	JE12	Congelación convencional	4	3/5	3.5	1	0	Grado 1	0
7	1	2	HO02	Congelación convencional	4	3/5	3	1	0	Grado 1	0
8	1	2	CH500	Congelación convencional	4	3/5	3	0	1	Grado 1	1
9	1	2	HO23	Congelación convencional	4	3/5	3	0	1	Grado 1	0
10	1	2	BS345	Congelación convencional	4	3/5	3	0	1	Grado 1	1
11	2	1	EA51	Vitrificación	4	3/5	3	0	1	Grado 1	0
12	2	1	EA1323	Vitrificación	4	3/5	3	1	0	Grado 1	1
13	2	1	N600	Vitrificación	4	3/5	3	1	0	Grado 1	0
14	2	1	WG98	Vitrificación	4	3/5	2.5	1	0	Grado 1	0
15	2	1	PG65	Vitrificación	4	3/5	3	1	0	Grado 1	0
16	2	2	JP0290	Vitrificación	4	3/5	3.5	1	0	Grado 1	1
17	2	2	JP0545	Vitrificación	4	3/5	3.5	0	1	Grado 1	1
18	2	2	JB345	Vitrificación	4	3/5	3	0	1	Grado 1	0
19	2	2	JB04	Vitrificación	4	3/5	2.5	1	0	Grado 1	0
20	2	2	KR65	Vitrificación	4	3/5	2.5	1	0	Grado 1	1

Anexo 3. Fotografías

Defensa de perfil





Preparación de receptoras



Inicio del proceso de sinconización de receptoras



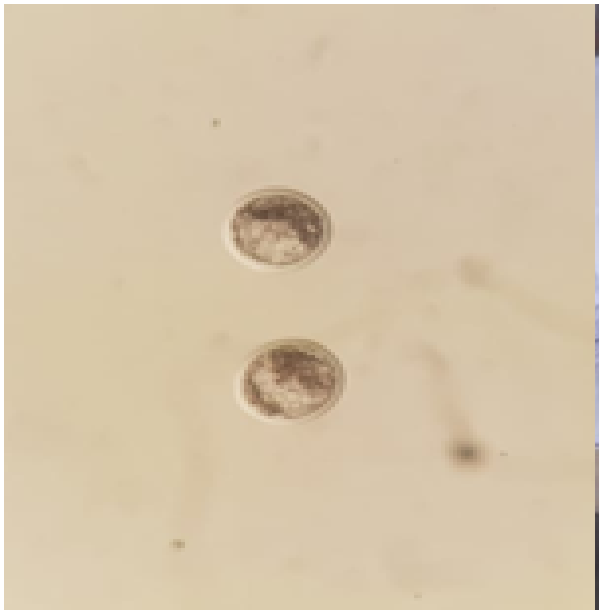
Ultrasonografía en receptoras.



Retiro de dispositivo intravaginal



Aplicación de hormonas para continuidad de la sincronización de receptoras.



Evaluación de embriones congelados obtenidos in vivo.



Desvitrificación de embriones obtenidos in vitro



Medios de vitrificación y desvitrificación.



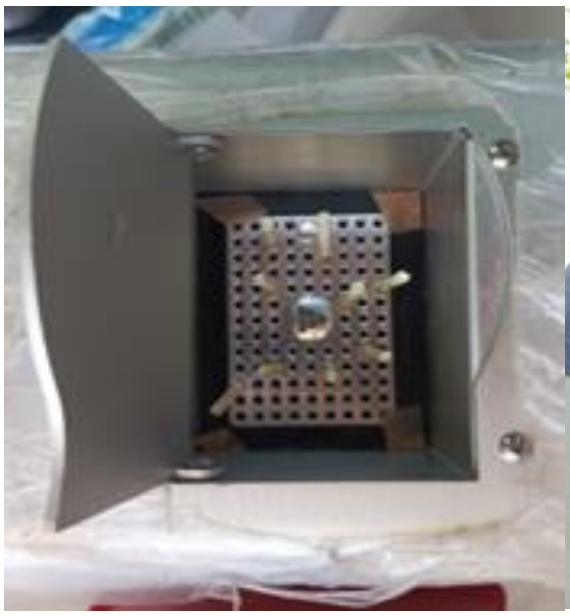
Equipo técnico para desvitrificación.



Laboratorio in vitro



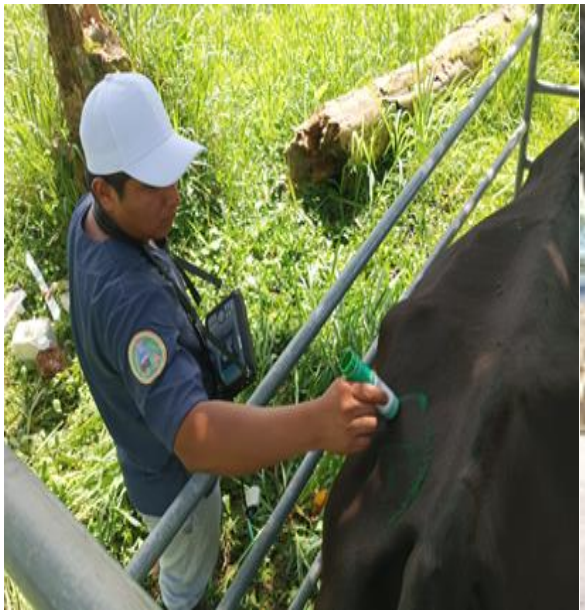
Materiales para la transferencia de embriones



Embriones desvitrificados en termo de transporte de embriones



Ultrasonografía a receptoras



Determinación del lugar de implantación.



Aplicación de anestesia epidural



Descongelación de embriones.



Preparación del embrión para implantación.



Implantación de embrión



Equipos utilizados para la transferencia de embriones



Visita de campo modalidad presencial mediante exposición.

Pre defensa de tesis.



Vacas donantes de embriones



Anexo 4. Glosario de términos técnicos

Benzoato de estradiol. – Hormona utilizada para regular el ciclo estral de los animales, induciendo el reclutamiento hormonal e inclusive en la expulsión de materia anormal del útero.

Congelación. - La congelación es el proceso y el resultado de congelar: hacer que un líquido se vuelva sólido por la acción del frío. Este verbo también se refiere a almacenar alimentos, medicamentos u otros elementos a una temperatura muy baja para que se mantengan en buenas condiciones; a dañar un tejido o un sistema por el frío; o a detener o suspender algo de manera temporal o indefinida.

Crio preservación. - Es una técnica que nos permite mantener y congelar el material genético en este caso los embriones y semen de sementales, deteniendo las funciones biológicas y conservando la integridad de los mismos.

Cuerpo lúteo. - Es una estructura ovárica que se produce después de la ovulación y es la encargada de secretar hormonas como la progesterona y los estrógenos.

DIB.- Dispositivo intravaginal Bovino, contiene progesterona que es liberada de manera lenta ayuda regular el ciclo estral en las hembras cumpliendo su función en la dinámica folicular de las hembras.

eCG. - Gonadotropina coriónica equina es una hormona utilizada en los protocolos de sincronización de celo para inseminación artificial a tiempo fijo ya que ayuda en el desarrollo folicular.

Ecografía. - Técnica de exploración de los órganos internos del cuerpo que consiste en registrar el eco de ondas electromagnéticas o acústicas enviadas hacia el lugar que se examina.

Embrión. – Es la etapa inicial del desarrollo de todo ser vivo después del momento de fertilización partiendo de las células germinales.

Endometrio. - Es el tejido interior del útero cuya función es alojar y nutrir al feto durante la preñez.

GnrH. – Es una hormona compuesta por la FSH y LH que puede liberar sus funciones de acuerdo al momento de aplicación en los diferentes tipos de protocolas en TETF, IATF y como coadyuvante en el tratamiento de quistes foliculares.

Hembras Receptoras. - Son aquellos animales utilizados como recipientes para la implantación de embriones de hembras donantes.

Holding. - es el medio de alimentación y mantención de los embriones apoyando la sobrevivencia de los embriones a temperatura ambiente ya que contiene enzimas y aminoácidos esenciales.

Nitrógeno líquido. - Es un líquido utilizado para la crio preservación de material genético que se encuentra a -196ºC

OPU. - Ovario pick up lo que significa aspiración folicular es una técnica que consiste en perforar el endometrio y los folículos para obtener mediante aspiración los ovocitos que serán utilizados en una fertilización in vitro.

Ovocito. - Es la célula germinal femenina que esta en proceso de convertirse en un ovulo maduro para una fertilización.

Prolactina. - Hormona que estimula la secreción de la leche a través de una acción directa sobre la glándula mamaria.

Prostaglandina. - Es una hormona utilizada para inducir el parto, inducir un aborto, sincronización del celo, tratamiento de quistes luteales.

Transferencia de embriones. - La transferencia como tal consiste en seleccionar vacas no genéticamente mejorada, como vientres de alquiler, las cuales serán reconocidas como vacas receptoras en las que se implantara los embriones los mismos que en sus ADN serán genéticamente mejorados, de características seleccionadas e inclusive sexado. En esta técnica no interviene el ADN de la vaca receptora por lo cual el embrión será 100% de genética elite.

Vitrificación. - Proceso de deshidratación y congelamiento en vidrio de embriones.

Zona pelúcida. - Es la membrana traslucida que rodea al embrión y se encarga de la protección del mismo